

DIVERSIDAD DE CEPAS VIABLES GRAM NEGATIVAS EN EL EMBALSE RIO III (CORDOBA, ARGENTINA)*

M. A. Di Siervi, A. A. Mariazzi y M. T. Corrales

Instituto de Limnología "Dr. R.A. Ringuelet"
Casilla de Correo 55 - 1923 Berisso - Argentina

RESUMEN

Di Siervi, M.A.; A.A. Mariazzi y M.T. Corrales. 1986. Diversidad de cepas viables Gram negativas en el Embalse Río III (Córdoba, Argentina). *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral*, 17(1): 1-5.

Se realizaron muestreos mensuales en dos períodos diferentes y a dos profundidades, en los que se obtuvieron, en total, 1.344 cepas. Estas fueron sometidas a varios tests y pruebas bioquímicas, lo que dió un total de 426 clases distintas, con 113 que fueron comunes en ambos períodos, las que representaron el 58% del total de cepas.

Se demostró una gran diversidad, aunque más de la mitad de las bacterias viables Gram negativas aisladas se mantuvo estable.

ABSTRACT

Di Siervi, M.A.; A.A. Mariazzi y M.T. Corrales. 1986. Diversity of Gram negative viable strains of "Embalse del Río III" (Prov. Córdoba, Argentina). *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral*, 17(1): 1-5.

In order to study bacterial diversity in samples obtained from the Embalse del Río III, a classification of bacteria was done on the basis of eleven different tests. The analysis of diversity was performed month after month and at two different depths, with the 1.344 strains obtained. It showed 426 different classes, 113 are in common and involved 58% of the total.

A great diversity is demonstrated in the groups of bacteria although it did not vary greatly along the twenty six samplings.

* Presentado en la 53^o Reunión de Comunicaciones Científicas de la Asoc. de Ciencias Nat. del Litoral, Santa Fe, 29 de abril 1986.

INTRODUCCION

Las respuestas de una comunidad bacteriana a las distintas condiciones de un ambiente, se pueden evaluar teniendo en cuenta dos parámetros importantes :la actividad y la composición de dicha comunidad.

Comunmente, cuando se trata de tipificar bacterias por medio de claves, para estudiar su diversidad, un gran número no puede ser ubicado fácilmente en los géneros más comunes y quedan incluídas en un solo grupo como "no identificadas". Por supuesto que si se realiza un estudio más profundo, estas bacterias pueden ser reconocidas, pero se necesitaría más trabajo y tiempo. Esto no siempre se justifica en ecología bacteriana, donde el conocimiento sistemático detallado no es el objetivo principal. Por lo tanto, hemos evaluado la diversidad, con el sistema numérico propuesto por Griffiths y Lovitt³, de fácil aplicación.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras fueron obtenidas en el Embalse del Río III (Córdoba), lago artificial cuyas características ya fueron detalladas⁶⁻⁷.

Los muestreos se realizaron en la misma estación durante dos períodos: el primero comprendido entre setiembre de 1977 y noviembre de 1978; el segundo entre marzo de 1980 y marzo de 1981.

Las muestras fueron obtenidas mensualmente, a 2,5 metros de profundidad y a 1 metro del fondo. Fueron diluídas y se sembraron alícuotas en medio de cultivo de la siguiente composición: peptona 0,5^o/o, extracto de levadura 0,1^o/o, FePO₄ 0,001^o/o y agar 1,5^o/o.

Luego de un período de incubación de 10 días a 20^oC., se realizó un aislamiento al azar de bacterias en las placas con un número adecuado de colonias.

Hechas las purificaciones correspondientes y coloración de Gram, se realizaron las siguientes pruebas: movilidad, actividad lipolítica (Tributirina 1^o/o) . test de oxidasa y fermentación-oxidación de glucosa⁵.

La utilización de glucosa, glicolato y acetato como única fuente de carbono se estimó en un medio base mineral⁹, agregando cada sustrato en la concentración del 0,2^o/o. La acción amilolítica y la reducción de nitratos se observaron sobre el medio base de aislamiento más el agregado, al 0,1^o/o, de NO₃ K y almidón.

Toda cepa Gram negativa fue sometida a todos los tests mencionados y los resultados positivos fueron sumados de acuerdo al valor asignado a cada test y en el orden en que figuran en cada columna (cuadro 1). Así, cada cepa obtuvo un número de cuatro dígitos par su identificación².

El cuadro 2 resume el número de cepas positivas para cada prueba. Todas estas pruebas y observaciones de características fueron a su vez evaluadas para comprobar su utilidad, obteniéndose así sus valores de separación (Cuadro 3).

Cuadro 1
Caracteres utilizados para obtener los perfiles numéricos
de los bacilos Gram negativos.

1	Movilidad	Pigmento amarillo rojo o marrón no fluorescente	Glucosa	Fermentación (Glucosa)
2	Oxidasa	Tributirina	Glicolato	Oxidación (Glucosa)
4	-	Almidón	Acetato	Reducción de nitritos

Cuadro 2
Comparación de los dos períodos sobre la base
del número de cepas positivas

Combi- na- ción	1 ^{er} dígito		2 ^{do} dígito		3 ^{er} dígito		4 ^{to} dígito	
	77/78	80/81	77/78	80/81	77/78	80/81	77/78	80/81
0	320	290	32	56	43	89	177	228
1	36	132	11	19	53	135	3	2
2	128	210	95	162	5	15	76	127
3	116	112	24	118	25	29	-	-
4	-	-	59	11	23	49	156	142
5	-	-	24	16	180	207	68	90
6	-	-	222	124	9	39	120	155
7	-	-	133	238	262	181	-	-

1, 2 y 4: cepas positivas para cada prueba en particular.

3, 5, 6 y 7: combinaciones posibles de las pruebas posi-
tivas en cada dígito.

0: sin "tests" positivos.

Se trabajó con un total de 1344 cepas. En el primer período se colectaron 600 cepas, con 240 clases distintas; las restantes 744 fueron obtenidas en el segundo período, con 299 clases. En ambos lapsos hubo 113 clases comunes, o sea que para el total se obtuvieron 426 distintas.

Lograda la agrupación de las bacterias bajo distintos números identificatorios, se aplicó el índice de Cairns *et al.*¹ para establecer la diversidad en función de las profundidades y períodos de muestreo. Los valores encontrados se acercaron a 1, lo que indicó una gran diversidad. El análisis de la varianza demostró que sus diferencias eran no significativas.

Los números fueron por último almacenados como datos identificatorios de la fisiología de cada una de las cepas.

Cuadro 3
Valores de separación de las diferentes características
y pruebas bioquímicas utilizadas.

Pruebas bioquímicas y características	Período 77/78 Total de cepas = 600 Valor máximo de separación = 90.000		Período 80/81 Total de cepas = 744 Valor máximo de separación = 138.384	
	cepas posit.	% del máximo	cepas posit.	% del máximo
Movilidad	152	76	244	88
Oxidasa	244	97	322	98
Pigmento	192	87	391	100
Tributirina	474	66	642	47
Almidón	438	79	389	100
Glucosa	520	46	552	77
Miocolato	301	100	264	92
Acetato	474	66	476	92
Fermentativo en H. y L.	71	42	92	43
Oxidativo en H. y L.	196	88	282	94
Reducción de nitratos	344	98	387	100

RESULTADOS Y DISCUSION

Si bien hubo cambios en las clases encontradas mensualmente en las dos profundidades, éstos no fueron muy conspicuos.

Los 113 números comunes en los dos períodos involucraron a 780 cepas, o sea el 58^o/o del total aislado, dando un promedio de 7 por clase, quedando el 42^o/o restante compartido por 313 clases distintas. Esto nos indicó que más de la mitad de las cepas viables se mantuvieron sin cambio entre ambos períodos y profundidades y que la mayoría de las clases diferentes se debieron a hallazgos aislados, ya que el promedio es de 1,8, lo que indicó que muchas de las bacterias fueron halladas solo una vez en 26 muestreos.

Diversos autores (p. ej., Jannasch⁴, Staley⁸) señalaron que mediante los métodos indirectos no es posible evaluar la población bacteriana total sino una fracción, seleccionada en función del medio de cultivo y de otros parámetros (temperatura, tiempo de incubación, etc.). Por lo tanto, la diversidad aquí analizada, también solamente corresponde a un determinado grupo, seleccionado de acuerdo a las condiciones experimentales impuestas.

REFERENCIAS

1. Cairns, J., W. Douglas Albaugh, F. Busey y M. Duane Chanay, 1968. The sequential comparison index. A simplified method for non-biologist to estimate differences relative in biological diversity in stream pollution studies. *Water Pollut. Control Fed.*, 40: 1607-1613.
2. Di Siervi, M.A. y A.A. Mariazzi, 1982. Uso de perfiles numéricos para la identificación de bacterias Gram negativas de ambientes lacustres. *Limnobiología*, 2: 330-332.
3. Griffiths, A.J. y R. Lovitt, 1980. Use of numerical profiles for studying bacterial diversity. *Microbiol. Ecol.*, 6: 35-43.
4. Jannasch, H.W. 1965. Biological significance of bacterial counts in aquatic environments (p.: 127-132). En: Proceedings of the Atmospheric Biology Conference 1965. (Tsuchiya y Brown, ed.) Massachusetts.
5. Mariazzi, A.A. 1977. Contribución al conocimiento de bacterias lipofílicas de ecosistemas lacustres subalpinos. *Limnobiología*, 1: 153-158.
6. Mariazzi, A.A. y V.H. Conzorno, 1980. Distribución de clorofila-a y producción fotosintética del fitoplancton en el embalse del Río Tercero. I. Primeros resultados. *Limnobiología*, 2: 54-67.
7. Mariazzi, A.A.; M.C. Romero, E.R. Villalobos, M.A. Di Siervi y A.J. Mariñelarena, 1981. Estudios bacteriológicos en el Embalse del Río Tercero (Provincia de Córdoba, Argentina). Factores ecológicos y predicciones sobre efectos térmicos. *Limnobiología*, 2: 89-110.
8. Staley, J.T. 1979. Diversity of aquatic heterotrophic bacterial communities. (p. 55-61). En: Aquatic Microbial Ecology (Colwell R.R. y Foster J., Ed.). *Ann. Soc. Microbiol. Maryland Sea Grant Publication* (460 p.).
9. Tanaka N.; M. Nakanishi y H. Kadota, 1974. Nutritional interrelations between bacteria and phytoplankton in a pelagic ecosystem. (p. 495-509). En: Effect of the Ocean Environment on Microbial Activities (Colwell y Morita, Ed.). *Univ. Park Press, Maryland* (587 p.).