

VARIACION TEMPORAL DEL NUMERO DE BACTERIAS AMONIFICADORAS HERPOBENTICAS EN UN SISTEMA EUTROFICO, LAGO TON-TON (CANELONES-URUGUAY) *

Rubén Sommaruga

Facultad de Humanidades y Ciencias
Departamento de Hidrobiología - Sección Limnología
Tristán Narvaja 1674
Montevideo, Uruguay

RESUMEN

Sommaruga, R. 1987. Variación temporal del número de bacterias amonificadoras herpobénticas en un sistema eutrófico, Lago Ton-Ton (Canelones - Uruguay). *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral*, 18 (2): 123 - 130 .

El presente trabajo tuvo por objetivo estudiar los factores que controlan la variación temporal en el número de bacterias amonificadoras del sedimento superficial en un sistema léntico de características eutróficas. La aparición de condiciones oxidantes a nivel de la interfase agua-sedimento, en abril, produciría una rápida degradación del material orgánico, principalmente, fitodetrítus, sedimentado en el verano y al comienzo del otoño (floraciones de *Anabaena*). Esta situación coincide con los mínimos valores de materia orgánica y nitrógeno orgánico, así como con los máximos de bacterias amonificadoras y de amonio en el agua de fondo e intersticial. Una mayor demanda de oxígeno por el sedimento de origen biológico en abril, apoya esta hipótesis. La eliminación de los datos correspondientes a este mes en el análisis de correlación, vuelve a mostrar la covariación natural de estos parámetros.

ABSTRACT

Sommaruga, R. 1987. Temporal variation of ammonifying bacteria numbers in an eutrophic system, Lago Ton-Ton (Canelones, Uruguay). *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral*, 18 (2): 123 - 130 .

The aim of this paper was to elucidate the factors controlling temporal variation of ammonifying bacteria at sediment surface in a eutrophic lentic system. Oxidant conditions at sediment-water interface in April would produce a fast decomposition of organic matter, mainly phytodetritus settled in summer and at the beginning of fall (*Anabaena* blooms). This situations was coincident with minimum values of organic matter and organic nitrogen and also with maximum of ammonifying bacteria and ammonium at bottom and interstitial water. A maximum value of sediment oxygen demand from biological origin in April supports this hypothesis. Data elimination of correlation analysis corresponding to this month show natural covariation between these parameters.

* Trabajo presentado en las III Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral, Corrientes, agosto de 1987.

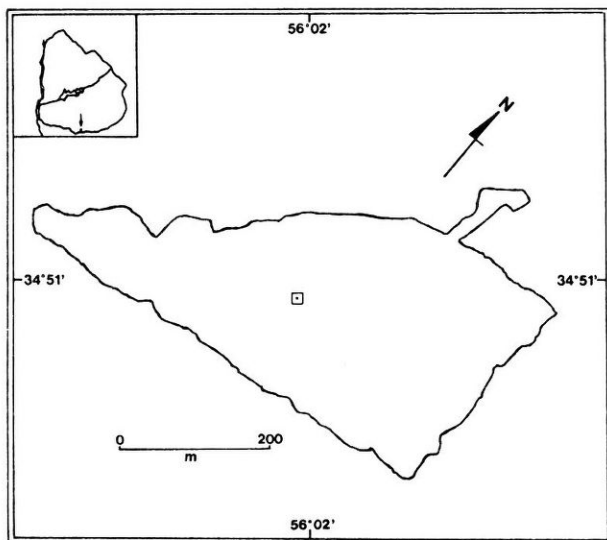


Fig. 1. Lago Ton-Ton y ubicación de la estación de muestreo.

INTRODUCCION

Las bacterias que habitan en el sedimento de un lago se encuentran en números de hasta 3 o 4 órdenes superiores de magnitud en comparación a las del agua y juegan un importante rol en los ciclos geoquímicos y procesos de mineralización de la materia orgánica⁸.

Dentro del gran grupo de bacterias heterotróficas, las amonificadoras herpobénticas o aquellas que habitan en el fango fácilmente penetrable^{4,7} llevan a cabo el proceso conocido como amonificación. Este consiste en la hidrólisis de proteínas por enzimas proteolíticas y en la desaminación posterior de los aminoácidos resultantes, para dar como producto final el amonio. La amonificación en el sedimento es realizada, bajo condiciones anaeróbicas, principalmente por bacterias formadoras de esporas⁹, como los géneros *Bacillus* y *Clostridium*.

El sustrato que utilizan es el nitrógeno orgánico (proteínas, polipéptidos, nucleoproteínas y ácidos nucleicos) proveniente de los organismos muertos que rápidamente sedimentan.

La importancia de este proceso radica en que el amonio producido en el sedimento, y que difunde a la columna de agua, constituye la principal fuente de nitrógeno asimilable para el fitoplancton^{1,2}. Por lo tanto resulta un proceso clave en el metabolismo del sistema y en la regeneración de nutrientes nitrogenados.

El presente trabajo tiene por objetivo estudiar los factores que controlan la variación temporal en la abundancia de las bacterias amonificadoras del sedimento superficial, en un sistema eutrófico.

DESCRIPCION DEL AREA

El lago artificial reciente Ton—Ton (34° 51' S y 56° 02' W) (Fig. 1) es un sistema de características eutróficas, que presenta un típico ciclo térmico del tipo monomóctico tibio. La estratificación comienza en setiembre—octubre y se extiende hasta marzo. Durante el verano presenta un hipolimnion anóxico y floraciones características de *Anabaena* sp. que se prolongan hasta el comienzo del otoño. No posee afluentes ni efluentes y el origen de la materia orgánica, en consecuencia, es principalmente autóctono. El sedimento superficial de la zona central, tiene un tamaño de grano de 0,02 mm (limo medio), con un tenor de agua del 90% y un característico color negro. Durante el período de mezcla, se observa una zona más clara (gris verdosa) que se extiende hasta los 8 mm de profundidad y que coincide con valores de potencial redox mayores a + 200 mV. Los primeros centímetros del sedimento poseen una alta concentración de restos vegetales, principalmente de *Melosira granulata* así como de zooplancton.

MATERIAL Y METODOS

Muestras de sedimento fueron obtenidas mensualmente de febrero a octubre de 1986, de la zona más profunda (ca. 8 m) (Fig. 1) mediante buceo autónomo. Se utilizaron núcleos de acrílico (cores) de 50 cm de largo y 5 cm de diámetro interno. Las muestras de agua de fondo para análisis químicos fueron tomadas con una botella Van Dorn (3 l) a 1 m de la interfase agua-sedimento. *In situ* fueron determinados el contenido de oxígeno utilizando un oxímetro YSI Mod. 57 y la temperatura con el termómetro acoplado al electrodo de oxígeno.

Las muestras acondicionadas en frío, fueron transportadas al laboratorio y procesadas en un lapso no mayor a las 3 horas. En el laboratorio, el primer centímetro de sedimento fue seccionado bajo condiciones asépticas y utilizado para los análisis bacteriológicos y químicos.

La enumeración de las bacterias amonificadoras fue realizada por la técnica del Número Más Probable (NMP) y la metodología utilizada es descrita en detalle por Sommaruga¹⁶. El NMP fue calculado utilizando un programa de computación Basic³. Para cada valor fue calculado el intervalo de confianza al 95 %, así como el parámetro estadístico "deviance" de Nelder y Wedderburn¹⁰, que compara la probabilidad de que los resultados observados hayan sido generados por un modelo que estima el NMP, con la probabilidad de que hayan sido generados por un modelo que exactamente predice las observaciones. Grandes valores de "deviance", indican un modelo inadecuado y por lo tanto errores en la elección de las diluciones. Para el modelo del NMP, este parámetro tiene una distribución aproximada a la del Chi—Cuadrado y resulta así útil la comparación de los valores obtenidos con un nivel de significación del 5 %, para descartar o no la estimación. Los datos del NMP fueron expresados posteriormente en base al peso seco del sedimento.

El contenido de materia orgánica fue calculado como la pérdida en peso por ignición en una mufla a 500°C durante dos horas, luego de secar el sedimento por una noche a 80°C y homogeneizarlo en un mortero.

El nitrógeno orgánico fue determinado por el método de Kjeldhal.

El agua intersticial obtenida de acuerdo a Mühlhauser y Dokulij⁹, fue analizada al igual que el agua de fondo para el amonio, siguiendo el método de Koroleff¹³. Todos los análisis químicos fueron realizados por duplicado y los resultados expresados como su promedio.

Antes de aplicar cualquier test paramétrico a conteos bacterianos, generalmente se deben realizar transformaciones apropiadas⁵. Dado que el número de muestras no es grande, la comprobación de una distribución normal o la aplicación de una transformación apropiada, no puede realizarse. En consecuencia, el coeficiente de correlación no paramétrico por rangos de Spearman (r_s)¹⁴, fue utilizado para investigar el grado de correlación entre los parámetros.

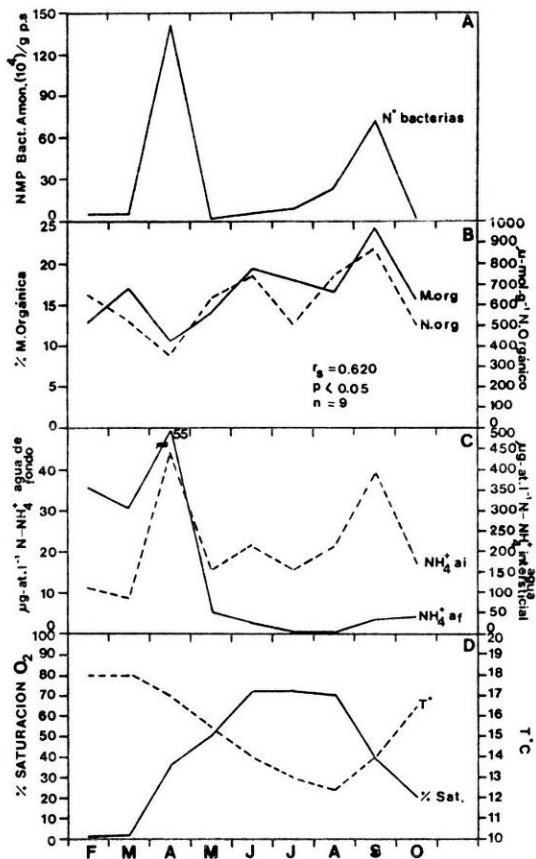


Fig. 2. Variación del número de bacterias amonificadoras (A), concentración de materia orgánica y nitrógeno orgánico (B), amonio en el agua de fondo (af) e intersticial (ai) (C), porcentaje de saturación de oxígeno y temperatura del agua de fondo (D), a lo largo del período de estudio.

RESULTADOS

La distribución de todos los parámetros a lo largo del período de estudio se muestra en la Fig. 2. El número de bacterias amonificadoras muestra un valor máximo en abril con un NMP de 1412000/g de peso seco (p.s.), existiendo otro valor alto de 706100 en setiembre. Los valores mínimos se registraron en mayo y octubre con un NMP de 21590/g de p.s. El NMP para cada mes, junto con el intervalo de confianza y la "deviance" se muestran en el Cuadro 1. Los valores de "deviance" en comparación con el valor al 5 % del Chi-Cuadrado siempre fueron menores, indicando que las diluciones utilizadas fueron las apropiadas.

La materia orgánica y el nitrógeno orgánico, que tuvieron similar comportamiento ($r_s = 0,620$; $p < 0,05$; $n = 9$) presentaron sus máximos durante el mes de setiembre con un 23,9 % y 864 $\mu\text{-mol/g}$, respectivamente. Los mínimos se produjeron en abril con un 11 % de materia orgánica y 350 $\mu\text{-mol/g}$ de nitrógeno orgánico.

Los valores de amonio en el agua de fondo tuvieron su máximo al comienzo del período de mezcla en abril con 55 $\mu\text{g.at/l N-NH}_4$, observándose una disminución durante el período de mezcla, para aumentar al comienzo del nuevo período de estratificación.

El contenido de amonio en el agua intersticial del primer centímetro de sedimento tuvo su máximo también en abril 441 $\mu\text{g.at/l N-NH}_4$ con un segundo valor alto de 387,4 en setiembre.

Los porcentajes de saturación muestran que durante febrero y marzo los valores fueron cercanos a 0 %, observándose un incremento gradual a partir de abril para alcanzar el máximo de 72% en junio y julio. En setiembre y octubre los valores disminuyen nuevamente a medida que el sistema se estratifica.

CUADRO 1
Datos estadísticos del Número Más Probable (NMP) para los meses en estudio.
I.C. = intervalo de confianza

MES	NMP	I. C. 95 %	DEVIANCE*	CHI ₂ (5%)
FEB	40190	9770 - 166000	0,343	9,49
MAR	39900	9784 - 162700	0,368	11,07
ABR	1412000	389224 - 5015570	0,91	11,07
MAY	21590	6185 - 75408	2,16	11,07
JUN	54480	14085 - 141037	1,18	11,07
JUL	69480	16470 - 300978	2,19	9,49
AGO	225300	62930 - 806950	2,01	9,49
SET	706100	165310 - 3016068	2,19	11,07
OCT	21590	6185 - 75408	2,16	11,07

* Nelder & Wedderburn¹⁰

La temperatura del agua de fondo, presentó un rango pequeño de variación siendo la máxima 18°C y la mínima 12,5 ° C.

El análisis de correlación por rangos de Spearman, mostró un grado de correlación de 0,775 ($p < 0,05$; $n = 9$), entre el número de bacterias amonificadoras y la concentración de amonio en el agua intersticial, no existiendo correlaciones significativas con los demás parámetros estudiados. La eliminación de los datos de abril en el análisis de correlación, muestra como los r_s entre las bacterias amonificadoras y la materia orgánica y nitrógeno orgánico 0,678 y 0,690, respectivamente ($p < 0,05$; $n = 8$) se tornan significativos (Fig. 3). Así también se observan correlaciones significativas entre la materia orgánica, nitrógeno orgánico y el amonio del agua intersticial 0,643 y 0,678 ($p < 0,05$; $n = 8$), respectivamente.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El proceso de amonificación tiene la ventaja de desarrollarse tanto bajo condiciones aerobias como anaerobias¹. La presencia de *Bacillus*, un anaerobio facultativo, como único género aislado durante todos los muestreos confirma este hecho. La alta correlación entre el número de bacterias amonificadoras y las concentraciones de amonio en el agua intersticial de superficie, muestra la incidencia de aquellas en este proceso.

Las fluctuaciones en número de este grupo fisiológico tienen relación con la variación del material orgánico sedimentado, principalmente el de origen vegetal. La impor-

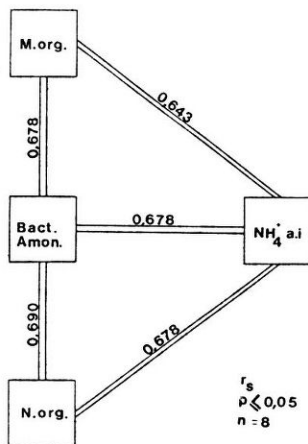


Fig. 3. Conjunto de correlaciones por rangos de Spearman (r_s) entre el número de bacterias amonificadoras (Bac. Amon.) y materia orgánica (M. org), nitrógeno orgánico (N. org) y amonio del agua intersticial (NH_4 a.i.).

tancia del origen de la materia orgánica detrítica en relación al crecimiento bacteriano ha sido discutida por Niewolak *et al.*¹¹. Estos concluyen que la variación del detritus de origen fitoplanctónico es la de mayor incidencia ya que este material es más fácilmente degradable en comparación al de origen zooplanctónico. Otra posible explicación es que el fitodetritus provee a las bacterias, no sólo de una superficie nueva donde se pueden adherir, sino también de una fuente de nitrógeno rápidamente degradable⁶.

Aunque uno de los mayores valores de bacterias amonificadoras se registró en setiembre, cuando lo fueron también los valores de materia orgánica y nitrógeno orgánico, no se halló una correlación estadística significativa entre ellos. Por otro lado las concentraciones más bajas de estos dos últimos parámetros encontrados en abril, hacen suponer que la materia orgánica principalmente de origen fitodetrítico, sedimentada durante el verano y al comienzo del otoño (floraciones de *Anabaena*) es degradada rápidamente. Esto se debería al estímulo que produce la aparición del oxígeno a nivel de la interfase agua-sedimento. Al eliminar los datos correspondientes a abril que se apartan del comportamiento general esperado, los coeficientes se tornan significativos mostrando la covariación natural de aquellos parámetros.

Halemejko y Chrost² estudiando los procesos de descomposición del fitoplancton en un lago eutrófico, encontraron que las floraciones de verano conformadas por cianofíceas y dinoflagelados, eran degradadas más rápido en comparación con las de otoño y primavera.

Un estudio realizado en paralelo al presente¹⁵ sobre la actividad metabólica del sedimento, estimada como la demanda del oxígeno bentónica total, muestra que el valor máximo $72,51 \text{ mgO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, se produce también en abril. De este valor total, el componente biológico representó un 71 % de la respiración total del sedimento, apoyando la hipótesis planteada más arriba.

La presencia de este fitodetritus produce un aumento tanto en el número de bacterias amonificadoras como en el amonio de agua de fondo e intersticial. Por lo tanto los valores máximos de amonio en el agua de fondo no ocurren en el período de estratificación como era de esperar, sino al comienzo del período de mezcla.

En resumen, la variación de este grupo de bacterias está condicionada a las características propias del sistema. Estas se combinan de manera que las fluctuaciones en el aporte de material orgánico y el pasaje de condiciones anóxicas a óxicas determinan las respuestas de las bacterias amonificadoras en el sedimento superficial. La temperatura aunque de importancia fundamental en todo proceso metabólico bacteriano, no mostró incidencia debido probablemente al pequeño rango de variación que presenta en el hipolimnion.

AGRADECIMIENTOS

Al Lic. Wilson Pintos por la corrección crítica del manuscrito, a Ramón de León por la obtención de las muestras del sedimento y a Patricia Sagara por el mecanografiado.

REFERENCIAS

1. Engvall, A.G. 1978. The fate of nitrogen in early diagenesis of Baltic sediments. A study of the sediment-water interface. Tesis (M. Sc), Dept. de Geología, Univ. Stockholm, 83 p.
2. Halemejko, G.Z. y R.J. Chrost. 1984. The role of phosphatases in phosphorus mineralization during decomposition of lake phytoplankton blooms. *Arch. Hydrobiol.*, 101: 489 - 502.

3. Hurley, M.A. y M.E. Roscoe. 1983. Automated statistical analysis of microbial enumeration by dilution series. *J. Appl. Bacteriol.*, 55: 159 – 164.
4. Hutchinson, G.E. 1975. A treatise on Limnology II. Limnological Botany, New York y Chis-terter, Wiley, 1115 p.
5. Jones, J.G. 1973. Use of nonparametric test for the analysis of data obtained from preli-minary surveys: a review. *J. Appl. Bacteriol.*, 36: 197 – 210.
6. Jones, J.G. 1976. The microbiology and decomposition of seston in openwater and experi-mental enclosures in a productive lake. *J. Ecol.*, 64: 241 – 278.
7. Jones, J.G. 1977. The study of aquatic microbial communities (p. 1–25). En: F.A. Skinner y J.M. Shewan (eds.). Aquatic Microbiology. *Academic Press*, London, 361 p.
8. Jones, J.G. 1982. Activities of aerobic and anaerobic bacteria in lake sediments and their *ment Microbiology. Society for General Microbiology*, effect on the water column (p. 107 – 145). En: D.B. Nedwell y C.M. Brown, (eds.). Sedi-ment Microbiology. Society for General Microbiology, *Academic Press*, 234 p.
9. Mühlhauser, H.A. y M. Dokulil. 1982. Ammonifying bacteria and ammonia concentration profiles in the soft sediment of Neusiedlersee (Austria) (p. 127 – 137). En: I. Daubner, (ed.) III. Internat. Hydromikrobiol. Symp. *Slovak Akad. Wiss.*, 280 p.
10. Nedler, J.A. y R.W.M. Nedderburn. 1972. Generalized linear models. *J. Royal. Stat. Soc. A.*, 135: 370 – 384.
11. Niewolak, S., A. Korycka y E.Potocka. 1978. Ammonification processes in fertilized lakes. *Ekol. Pol.*, 26: 555 – 572.
12. Reynolds. C.S. 1984. The ecology of freshwater phytoplankton. *Cambridge Univ.Press.*, 384 p.
13. Ros, J. 1979. Prácticas de Ecología. *Omega*, Barcelona, 181 p.
14. Snedecor, G.W. y W.G. Cochran. 1967. Statistical methods. *Iowa State Univ. Press*, Iowa, 593 p.
15. Sommaruga, R. 1986. Dinámica de la interfase agua-sedimento en un sistema eutrófico, Lago Ton-Ton (Canelones-Uruguay) Con una caracterización físico-química y biológica del sedimento. Tesis de Licenciatura, *Fac. de Humanidades y Ciencias, Univ. de la República*, (Montevideo, R.O. Uruguay), 99 p.
16. Sommaruga, R. 1987. El uso del bromuro de cetiltrimetil amonio en la cuantificación de bacterias amonificadoras heterobónticas mediante la técnica del Número Más Probable. *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral*, 18 (1): 71 – 75.

Recibido / Received / 5 enero 1988.