FOTOADAPTACION DE LAS POBLACIONES FOTOTROFICAS DEL METALIMNION DEL LAGO VECHTEN (PAISES BAJOS) A BAJAS INTENSIDADES LUMINICAS

M.M. Sala¹ y C.L.M. Steenbergen²

¹Institut für Seenforschung und Fischereiwesen, Untere Seestraße 81, 7994 Langenargen, Germany; ²Centre for Limnology, Rijksstraatweg 6, 3631 AC Nieuwersluis, The Netherlands.

Palabras clave: metalimnion, bacterias fototróficas, fotosíntesis.

ABSTRACT

During summer of 1990 the productivity of phototrophic bacteria in deep layers of stratified Lake Vechten (The Netherlands) was studied. The methodology was based on determinations of the photosynthesis versus irradiance relationships of the bacterial populations and HPLC was employed to measure pigments for biomass estimates. The results show an adaptation of the phototrophic bacteria to very low photon fluxes.

INTRODUCCION

Las bacterias fototróficas del azufre son abundantes en muchos lagos meromíticos y monomíticos con un hipolimnion anaeróbico durante el periodo de estratificación. Como estas bacterias utilizan principalmente compuestos de azufre reducidos como dadores de electrones en su fotosíntesis, se mantienen en profundidades donde les llega luz suficiente y tienen un aporte constante de sulfhídrico (Pfennig, 1978). Esta zona, caracterizada por un fuerte gradiente térmico se llama metalimnion. El funcionamiento de la red microbiana en estas profundidades depende en gran manera del carbono producido en estos estratos, es decir, del carbono fijado por las bacterias fototróficas.

Durante el verano de 1990, apareció en el metalimnion del lago Vechten una capa de bacterias fototróficas formada principalmente por filamentos del tipo *Chloronema*.

El principal objetivo del estudio fué investigar en detalle la relación entre la luz y la productividad de estas bacterias fototróficas presentes en el lago Vechten.

AREA DE ESTUDIO

El lago Vechten se encuentra en la parte central de los Países Bajos. Se formó el año 1941 debido a la excavación de arena para construir una autopista cercana. El área superficial es de 4.7 ha, la profundidad máxima es 11.9 m y la profundidad media es de 6 m. Está dividido en dos cubetas que pertenecen a la categoría de lagos profundos con un área superficial relativamente pequeña (Wetzel, 1978). El lago está térmicamente estratificado desde mayo hasta octubre. Durante el periodo de estudio se desarrolló en el metalimnion, por debajo de una capa de algas móviles como *Ceratium hirundinella*, *Mallomonas caudata* y *Cryptomonas spp*, una capa de poblaciones fototróficas. Esta capa estaba formada principalmente por filamentos de tipo *Chloronema* y algunas células de *Chromatium* y *Thiopedia*. Mezcladas con ellas, aparecieron un gran número de células de la cianobacteria *Synechococcus*.

MATERIAL Y METODOS

El muestreo se realizó desde una balsa estable en el punto de máxima profundidad del lago (10 m) aproximadamente a las 8:00 h.

Las muestras se tomaron con un aparato diseñado especialmente para causar una mínima alteración en los gradientes (Jorgensen et al., 1979). El agua

era bombeada y pasaba a través de una célula instalada en un fluorímetro Turner 10-005 R que contenía filtros sensibles a la excitación y emisión de la clorofila ($E_x = CS5-60$; $E_m = CS2-64$). Las muestras fueron tomadas cuando aparecían picos de fluorescencia (RFU) en el registrador a medida que el muestreador era descendido (Steenbergen et al., 1989). Para la recogida de muestras se utilizaron botellas de cristal llenadas bajo el agua, en un cubo oscuro, y cerradas con tapones de rosca con un septo de goma.

El oxígeno y la temperatura fueron medidos *in situ* utilizando una sonda sumergible (YSI-5739; Yellow Springs Instruments). La concentración de sulfhídrico fué estimada con kits Aquaquant 14416 y 14435 (E. Merck). Los perfiles de intensidad de luz, es decir, la radiación disponible para la fotosíntesis (PAR) se realizaron con un sensor sumergible (Lambda Instruments, Model LI 192S).

La concentración de pigmentos fué analizada mediante HPLC, según Korthals y Steenbergen (1985). Las muestras fueron concentradas en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F ($0.7 \mu m$). Los filtros fueron liofilizados durante 2 horas a $-60^\circ C$ antes de la extracción con acetona. Para la cromatografía se introdujeron los extractos en una columna de sílice y fueron separados con una mezcla de hexano-acetona (8:20, v/v). Fué utilizada una bomba de presión constante Pye Unicam LC-XPS, y para la detección se empleó un detector (Hewlett Packard 1040 A) equipado con un ordenador (Hewlett Packard 9000 serie 300).

La productividad de las poblaciones fototróficas se averiguó mediante el método de incorporación de ^{14}C (Steemann Nielsen, 1958). En el laboratorio se inyectó H_2CO_3 a cada botella. También fué inyectado DCMU en las botellas en las que la fotosíntesis oxigénica debía ser inhibida.

Las muestras fueron incubadas durante 3 horas en un gradiente de luz. El incubador consistía en un tanque ($55 cm \times 60 cm \times 160 cm$) lleno de agua del lago mantenida a temperatura cercana a la *in situ*. La fuente de luz eran tubos fluorescentes (Philips TL 33) con un máximo a 580 nm similar a la calidad de luz a 6 m en el lago Vechten. Los tubos fluorescentes estaban situados en el plano vertical, perpendicular al eje longitudinal del tanque, creando un gradiente de luz a lo largo de la fila de 8 discos fijados al eje central. Cada disco, que tenía 8 clips donde situar las botellas, se hizo girar lentamente. El periodo de incubación de 3 horas se encuentra en el rango en el que la fijación de carbono aumenta linealmente (Steenbergen et al. 1990).

Después de la incubación, las muestras fueron filtradas a través de filtros de $0.45 \mu m$. Los filtros fueron lavados con HCl y agua del lago, y transferidos a viales de centelleo. La radioactividad de los filtros se midió en un contador de centelleo Packard Tricarb 4530. Las tasa de producción primaria se calcularon restando la incorporación de ^{14}C de cada botella en la oscuridad a sus réplicas incubadas en luz (Vollenweider 1969).

El papel de la luz en el control de la producción puede ser interpretado estudiando la relación entre la fotosíntesis y la irradiación. Para determinar esta relación fué utilizado el incubador. A partir de las curvas de relación generadas pudieron ser determinados los parámetros fotosintéticos P^B , α , e I_k . El parámetro α es la tasa de eficiencia fotosintética (Jassby et al., 1976) y se obtiene calculando la pendiente de la curva limitada por la luz. La tasa máxima fotosintética es P^B , donde B es la biomasa de clorofila o bacterioclorofila, y corresponde al valor que la curva alcanza en la saturación. El parámetro de saturación de la luz, I_k (Talling 1957), indica a que intensidad luminica se satura la fotosíntesis, y se obtiene calculando el cociente $I_k = P^B / \alpha$.

RESULTADOS

El lago Vechten presentaba una estratificación térmica durante el periodo de estudio, y las isopletas de oxígeno cero se encontraban a una profundidad de 5 m (Fig. 1). Las transparencias del disco de Secchi variaban de 1.9 a 3.5 m (Fig. 1). La atenuación de la luz con la profundidad durante este periodo se muestra en la figura 2, donde puede verse claramente que las condiciones de luz y la radiación disponible para la fotosíntesis (PAR), mejoraron durante el mes

Figura 1. Perfiles verticales en el lago Vechten de temperatura (T), oxígeno (O₂), fluorescencia *in vivo* de clorofila en unidades relativas (RFU), profundidad del disco de Secchi (SD), y sulfídrico (H₂S) en las fechas: (A) 15 de Agosto, (B) 23 de Agosto, (C) 29 de Agosto y (D) 5 de Septiembre de 1990.

Figura 2. Atenuaciones de la intensidad de luz PAR, y profundidades del disco de Secchi en el mediodía de dos días claros.

de agosto. Los máximos de pigmentos detectados con el fluorímetro, en RFU (unidades relativas de fluorescencia) (Fig. 1), nos indicaron las profundidades óptimas para la toma de muestras.

En la tabla 1 se muestran las concentraciones de pigmentos en sus respectivas profundidades y días. Los pigmentos fueron utilizados como indicadores de biomasa y en cálculos para normalizar las tasas de fotosíntesis. Las diferentes concentraciones de pigmentos nos indicaron la presencia de diferentes organismos, lo que pudo ser confirmado al mismo tiempo mediante una inspección de las muestras al microscopio óptico.

Tabla 1. Concentración de pigmentos ($\mu\text{g.l}^{-1}$) en las muestras tomadas en las fechas y profundidades indicadas.

Fecha	Profundidad (m)	Pigmentos ($\mu\text{g.l}^{-1}$)			
		Chl a	BChl a	BChl d	Okenona
9. Aug	5,3	39		321	4,2
14. Aug	5,3	35	7	170	1,4
21. Aug	5,5	59	30	280	6
28. Aug	5,2	60			
	5,4	33		8	
	5,6	44		164	
	5,8	50		290	
4. Sep	5,5	43		40	
	5,7	84		170	
	5,9	67	10	280	
	6,1	48		155	

La relación fotosíntesis-irradiación pudo ser determinada incubando muestras procedentes de una única profundidad a diferentes intensidades lumínicas.

La curva fotosíntesis-irradiación para las poblaciones oxigénicas (Fig. 3) muestra una fuerte pendiente inicial y parece no alcanzarse un máximo de incorporación de carbono en el rango de intensidades de luz utilizadas. Por ello, solo pudo ser calculada la tasa de eficiencia fotosintética, α . Esta variaba de 0,028 a 0,035 $\text{mg C (mg Chl a)}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \cdot (\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})^{-1}$ en diferentes experimentos.

La curva fotosíntesis-irradiación para las poblaciones anoxigénicas (Fig. 4) proporcionó la información necesaria en posteriores experimentos: para poder calcular los parámetros fotosintéticos α y P_{max} , bastaría incubar las muestras a 4.7 y 25 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ respectivamente.

Las muestras recogidas a diferentes profundidades del lago fueron incubadas a baja intensidad de luz, 4.7 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, y saturante, 25 $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. A partir de los resultados pudieron ser calculados los parámetros fotosintéticos (Tabla 2).

Figura 3. Fotosíntesis, P^B , expresada en $mg\ C\ (mg\ Chl)^{-1}.h^{-1}$, versus irradiación, I , expresada en $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ para las poblaciones bacterianas oxigénicas.

Figura 4. Curva fotosíntesis-irradiación para las poblaciones bacterianas anoxigénicas. La fotosíntesis, P^B se expresa en $mg\ C\ (mg\ Bchl)^{-1}.h^{-1}$, y la irradiación, I , en $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$.

Tabla 2. Parámetros fotosintéticos de las poblaciones anoxigénicas medidos a diferentes profundidades. P^B es la media del valor de asimilación de carbono en mg C (mg Bchl)⁻¹.h⁻¹. La tasa de eficiencia fotosintética es α , en mg C (mg Bchl)⁻¹.h⁻¹.(μE.m⁻².s⁻¹)⁻¹. El parámetro de saturación de la luz, I_k , se expresa en μE.m⁻².s⁻¹

Fecha	Profundidad (m)	Int. de luz (μE/m ² .s)	PB	α	I_k
28. Aug	5,4	4,7	0,0392	0,0083	8,9
		25	0,0746		
	5,6	4,7	0,0176	0,0037	12,5
		25	0,0469		
	5,8	4,7	0,0263	0,006	6,7
		25	0,0401		
4. Sep	5,5	4,7	0,0278	0,0059	14,9
		25	0,0881		
	5,7	4,7	0,0242	0,0052	8,7
		25	0,0449		
	5,9	4,7	0,0273	0,0058	6,5
		25	0,0376		
	6,1	4,7	0,027	0,0057	7,9
		25	0,0451		

DISCUSION

La curva fotosíntesis/irradiación y los valores de I_k muestran que son suficientes muy bajas intensidades de luz para saturar la fijación de carbono en las poblaciones fototróficas anoxigénicas, ya que el parámetro de saturación de la luz, I_k , varía entre 6 y 17 μE.m⁻².s⁻¹. Los niveles de luz ambiental eran aproximadamente entre 10 y 30 μE.m⁻².s⁻¹. Así pues, las bacterias fototróficas del azufre parecen estar bien adaptadas a la intensidad de luz *in situ*. La tasa de eficiencia fotosintética, es decir, la pendiente inicial α , no parecía aumentar o disminuir con la profundidad. Por el contrario, las algas árticas que crecen bajo una cubierta de nieve presentaron valores de α mayores cuanto mayor era la profundidad, mostrando unas eficiencias fotosintéticas muy elevadas a extremadamente bajas intensidades lumínicas (Cota, 1985). Las tasas fotosintéticas máximas, medidas a intensidades de luz saturantes (P^B a 25 μE.m⁻².s⁻¹) disminuían con la profundidad, variando entre de 0.08 a 5.4-5.5 m a 0.04 a 5.8-5.9. Ello indica que la capa superior de bacterias fototróficas del azufre contiene la mayor parte de células fotosintéticamente activas.

Para las poblaciones fotosintéticas oxigénicas solo pudo ser calculada la tasa de eficiencia fotosintética, α , y ésta variaba entre 0,028 y 0,035 mg C (mg Chl a)⁻¹.h⁻¹.(μE.m⁻².s⁻¹)⁻¹, indicando alta eficiencia fotosintética comparada con la de las bacterias fototróficas del azufre. Esto muestra que estas poblaciones, formadas principalmente por *Synechococcus* spp., están bien equipadas para la cantidad de luz disponible. Probablemente, esta habilidad de las células de *Synechococcus* es debida a su composición de pigmentos, ya que contienen ficoeritrina y ficocianina como pigmentos accesorios, cuyos máximos de absorción, 570 nm y 630 nm, se encuentran en el rango de luz ambiental, entre 480 nm y 680 nm, con un máximo a 580 nm. Los filamentos del tipo *Chloronema*, principales componentes de la biomasa de fototrofos anoxigénicos, contienen Bchl d que tiene un máximo de absorción a 450 nm y a 725-745 nm. Aparentemente, pues, las células de tipo *Chloronema* parecen estar muy poco adaptadas a la calidad de luz de la que disponen en las profundidades en las que se encuentran en el lago Vechten.

AGRADECIMIENTOS

M.M. Sala desea expresar su agradecimiento al Dr. C.L.M. Steenbergen por haberle ofrecido la invitación de participar en este proyecto. Asimismo, agradecemos a Harry Korthals el haber realizado los análisis de HPLC.

BIBLIOGRAFIA

- Cota, G.F., 1985. Photoadaptation of high arctic ice algae. Nature 315:219-222.
- Jassby, A.D. and T. Platt, 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnol.Oceanogr. 21:540-547.
- Jorgensen, B.B., J.G. Kuenen and Y.Cohen, 1979. Microbial transformations of sulfur compounds in a stratified lake (Solar Lake, Sinai). Limnol. Oceanogr. 24:799-822.
- Korthals, H.J. and C.L.M. Steenbergen, 1985. Separation and quantification of pigments from natural phototrophic microbial populations. FEMS Microbiol. Ecol. 31:177-185.
- Pfennig, N. 1978. General physiology and ecology of photosynthetic bacteria, p.3-14. En R.K. Clayton and W.R. Sistrom (eds.), The photosynthetic bacteria. Plenum.
- Stemann Nielsen, E., 1952. The use of radioactive carbon (¹⁴C) for measuring organic production in the sea. J.Cons.Perm.int.Explor.Mer. 18:117-140.
- Steenbergen, C.L.M., H.J. Korthals, A.L. Baker and C.J. Watras, 1989. Microscale vertical distribution of algal and bacterial plankton in Lake Vechten (The Netherlands). FEMS Microbiol.Ecol. 62:209-220.
- Steenbergen, C.L.M. and P. Van der Hoven, 1990. A note on the measurement of production of phototrophic bacteria in deep layers. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limn. 34:249-255.
- Talling, J.F., 1957. The phytoplankton population as a compound photosynthetic system. The New Phytologist 56:133-149.
- Vollenweider, R., 1969. Primary production in aquatic environment. I.B.P. Handbook No. 12, Blackell Scientific, Oxford.
- Wetzel, R.G., 1975. Limnology. Saunders. Philadelphia.