

Dinámica espaciotemporal de las poblaciones bacterianas fotosintéticas en una laguna anaerobia de aguas sulfurosas

RICARDO GUERRERO
y CARLES ABELLÀ

Departamento de Microbiología e Instituto de Biología Fundamental. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra (Barcelona).

INTRODUCCIÓN

La capacidad de las bacterias fotosintéticas para colorear las aguas sulfurosas anaerobias es bien conocida en la literatura (FORTI, 1952; RUTTNER, 1957), pero tan sólo en contados casos tal coloración alcanza la superficie (lago Son-Sakesar-Kahar, Paquistán, color rosado-grisáceo producido por *Lamprocystis roseopersicina*; HUTCHINSON, 1957). En la gran mayoría de los ejemplos estudiados, dicha coloración aparece en la profundidad donde la concentración de oxígeno es muy baja y empieza a aumentar la concentración de sulfhídrico. Estas condiciones extremas y limitantes se encuentran de forma permanente en los lagos o cubetas meromícticos en el nivel de la quemoclina (CULVER *et al.*, 1969; TAKAHASHI & ICHIMURA, 1969; COHEN *et al.*, 1977), o bien de forma transitoria en los lagos holomícticos, durante el período de estratificación térmica a nivel de la termoclina (ANAGNOSTIDIS & OVERBECK, 1969).

Hasta la actualidad, son muy pocos los estudios efectuados sobre la dinámica de estas poblaciones en relación con los parámetros físicoquímicos y biológicos determinantes. No obstante, se han realizado estudios relacionando la distribución de la concentración de sulfhídrico con el ciclo anual de las «aguas rojas» (por ejemplo, en el lago meromíctico de Faro, Sicilia; GENOVESE, 1965) y la dinámica de las poblaciones bacterianas con la producción de las algas de la capa superior (DRABKOVA, 1965).

El presente trabajo pretende analizar los factores que influyen en la evolución de dichas poblaciones y la distribución de éstas

a lo largo del tiempo en una de las lagunas acompañantes del lago de Banyoles (Gerona), una pequeña masa de agua de forma rectangular (26×20 m) y 11 m de profundidad. Durante parte del invierno, la superficie de esta laguna es de color rojo intenso debido a la aparición de un *bloom* de bacterias rojas del azufre (Cromatiáceas). El conjunto de fenómenos estudiados y la sucesión poblacional hace pensar que las comunidades bacterianas de esta laguna forman un *sulphuretum* en el sentido de BAAS BECKING (1925), es decir, constituyen un conjunto de asociaciones de microorganismos que cambian secuencialmente el estado de oxidación del azufre.

MATERIAL Y MÉTODOS

SITUACIÓN

La masa de agua estudiada se encuentra al oeste del lago de Banyoles, a unos 200 m de éste y cerca de su zona central, dentro de la finca conocida como Ca'n Sisó. Ha sido denominada laguna de la Ribera Castellana (la cual pasa a unos cinco metros de su orilla) o bien laguna del Sisó. Sus coordenadas geográficas son 2° 45' 05" E y 42° 07' 55" N, y la altura sobre el nivel del mar es de unos 175 m.

BATIMETRÍA Y BALANCE HIDRICO

La laguna del Sisó tiene una profundidad máxima de 11 m. Es una de las más profundas del grupo de lagunas acompañantes del sistema cárstico de Banyoles. Su forma es la de un cuadrilátero con los ángulos redon-

deados y la cubeta se aproxima a una semiesfera irregular, según puede apreciarse en la figura 1. Las orillas están cubiertas por abundante vegetación arbórea y arbustiva que la protegen del viento.

De la laguna sale un pequeño reguero que corre paralelo a la acequia anteriormente citada (Ribera Castellana) y desemboca en ella a unos 75 m de la salida. El caudal de salida es de aproximadamente 0,5 l/s, en invierno. La evaporación se estima en unos 3 m³ diarios. No existen entradas de agua superficiales. El agua necesaria para compensar las pérdidas debe entrar en profundidad, como es frecuente en las estructuras cársticas de este tipo. El tiempo de renovación del agua de la laguna se calcula en 0,22 años, y la tasa de renovación en 4,62 veces por año.

En la tabla 1 se detallan los principales parámetros morfométricos de la cubeta.

MÉTODOS DE MUESTREO

La recogida de muestras se ha llevado a cabo cada quince días desde enero hasta diciembre de 1977, empleando una botella de Ruttner transparente de 1 l de capacidad con termómetro incorporado. El muestreo se efectuaba aproximadamente a la misma hora (13:00 a 14:00) y a intervalos de 1 m

de profundidad, excepto en el primer metro, donde se realizaba a 0,2, 0,3 y 0,5 m. El punto de muestreo estaba situado en el centro aproximado de la laguna, a unos 13 m de la orilla. Simultáneamente se medía la temperatura y la transparencia del agua. En el laboratorio se efectuaban los análisis físico-químicos indicados en la tabla 3, así como otros análisis (pigmentos, DNA y proteína total) no presentados en este artículo. Todos estos análisis se llevaron a cabo según los métodos usuales descritos en GOLTERMAN (1969) y STRICKLAND & PARSONS (1968).

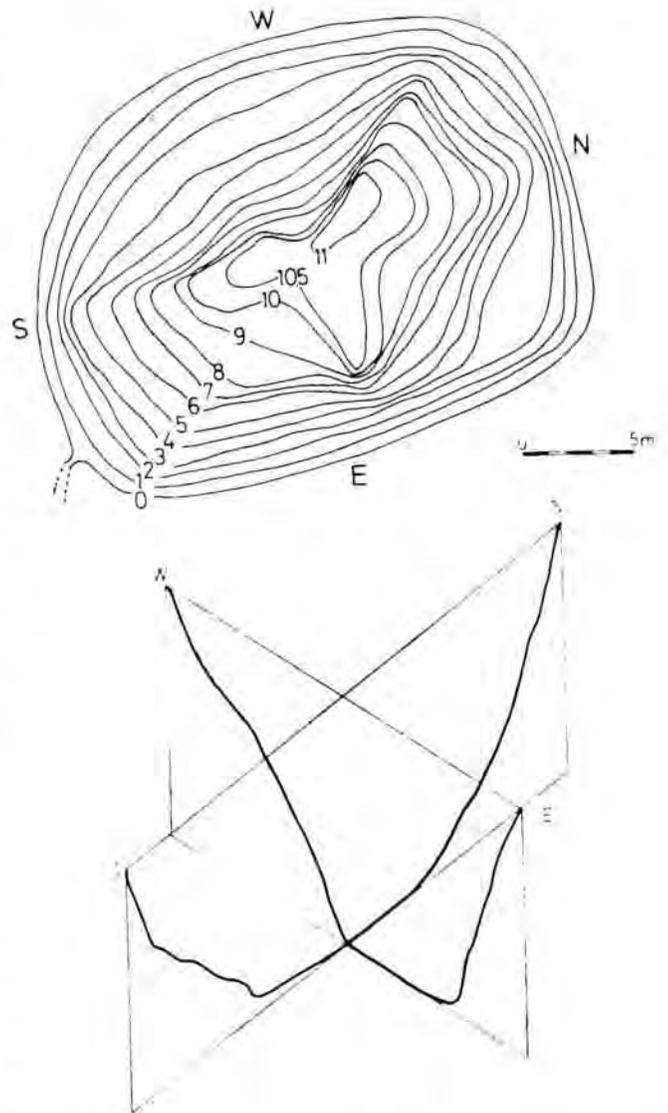


FIG. 1 A. Mapa batimétrico de la laguna del Sisó. B. Perfiles verticales en dirección norte-sur y este-oeste. — A. Bathymetric map of the Sisó pond. B. Vertical profiles in N-S and E-W directions.

Las muestras para la medición del sulfhídrico y del oxígeno se fijaban previamente en el campo en botellas herméticas de DBO, de 350 ml.

Las muestras para la enumeración bac-

Superficie (A_0)	457	m ²
Volumen (V)	3843	m ³
Profundidad máxima (Z_m)	11	m
Profundidad media ($\bar{Z} = V/A_0$)	8,40	m
Longitud (l)	26	m
Anchura (a)	20	m
Perímetro (L_0)	77,70	m
Desarrollo de la orilla		
($D_L = L_0/2 \sqrt{\pi A_0}$)	1,03	
Desarrollo del volumen		
($D_V = 3\bar{Z}/Z_m$)	2,29	
Profundidad del centro de gravedad (Z_g)	5	m

teriana se tomaban a partir de la botella de Ruttner en frascos estériles de 100 ml de capacidad. El recuento total se hacía por observación directa a 1000 x sobre filtros ($0,45 \mu\text{m}$ de poro) teñidos con fucsina y azul de metileno.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL AGUA

Temperatura. La laguna del Sisó se comporta, a la vista de la variación anual de la temperatura, como un lago monomítico templado, debido a que tiene un solo período de estratificación, entre junio y septiembre, y que presenta temperaturas mínimas superiores a los 4°C en enero, aumentando progresivamente hasta 15°C en septiembre, para después descender de nuevo. La temperatura máxima absoluta alcanzó los $22,7^\circ\text{C}$ en superficie durante el período de estratificación estival.

Las isotermas (fig. 2) presentan una cierta simetría especular con respecto a un eje situado aproximadamente en el mes de julio. En cuanto a la distribución vertical, el inicio de la estratificación térmica se sitúa a principios de mayo, y el final a últimos de septiembre. La termoclina está claramente establecida durante los meses de junio a agosto. El epilimnion, con temperaturas alrededor de 22°C , es muy poco potente (apenas 1 m), probablemente debido a la densa vegetación que rodea la laguna y que impide una acción más enérgica del viento; el metalimnion, que llega hasta los 2 m de profundidad, tiene un elevado gradiente de temperatura ($2,6^\circ\text{C}/\text{m}$); el hipolimnion, con 15°C de temperatura, es el más desarrollado y abarca desde los 2 m hasta el fondo.

Transparencia. La extinción de la luz se ha medido con un disco de Secchi de 30 cm de diámetro. En general, la transparencia fue muy baja, de alrededor de 30 cm durante casi todo el año, excepto durante el inicio de la estratificación térmica, donde presentaba un valor máximo de 2,3 m (fig. 6). La escasa transparencia general es debida a la elevada densidad de los microorganismos presentes y a la presencia de azufre coloidal cerca de la superficie, todo lo cual aumenta la turbiedad del agua.

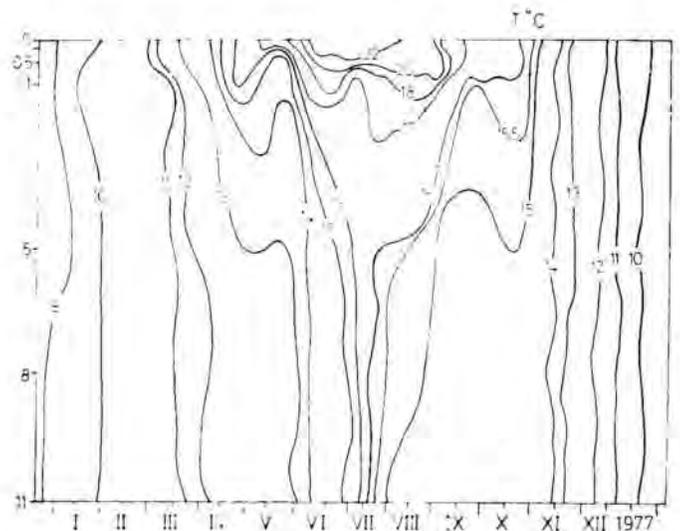


FIG. 2. Distribución de la temperatura con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. — *Distribution of temperature according to time and depth of the Sisó pond.*

Color del agua. El color del agua de la superficie (observado desde el exterior) varía mucho a lo largo del año. En enero-febrero era de color rojo intenso debido a la presencia de elevadas concentraciones de *Chromatium violascens* ($>10^6$ células/ml). Durante el inicio de la estratificación térmica (marzo a mayo), el agua superficial era clara hasta los 2 m. Durante la estratificación estival (junio a septiembre), el agua era de color gris blanquecino a causa de la acumulación en superficie de azufre elemental. Por último, durante los meses de octubre a diciembre el color era verde negruzco debido a las altas concentraciones de *Chlorobium phaeovibrioides*.

En la tabla 2 se relaciona la concentración de H_2S , la densidad de la población de la bacteria dominante y la presencia de azufre elemental, todo ello en la capa superficial del agua, con el color y transparencia de esta capa en las diferentes épocas del año.

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DEL AGUA

En la tabla 3 se indican los valores de varios parámetros fisicoquímicos en distintas profundidades, correspondientes a cuatro épocas diferentes del año.

Conductividad. Se puede afirmar que el grado de mineralización de la laguna es

TABLA 2. Variación estacional del color y transparencia de la capa superficial (hasta 30 cm) de agua en relación con la concentración de sulfhídrico, densidad bacteriana y presencia de azufre elemental. — *Seasonal variation of color and transparency of the water surface layer (30 cm) in relation to sulfide concentration, bacterial density and presence of elementary sulfur.*

Época del año	H ₂ S (mg/l)	Bacteria dominante en la superficie (> 10 ⁶ cél./ml)	Presencia de azufre elemental	Profundidad media del disco de Secchi (m)	Color de la superficie/transparencia del agua.
enero-feb.	15-30	<i>Chromatium</i>	+	0,3	gris blanquecino/opaca
marzo-mayo	0	—	—	0,3	rojo intenso/opaca
junio-sepbre.	< 10	—	—	1,8	incoloro/transparente
octubre-dic.	50-90	<i>Chlorobium</i>	±	0,3	verde negruzco/opaca

—: no observable
 +: capa uniforme
 ±: capa delgada no uniforme.

muy elevado, con valores comprendidos entre 1700 y 2000 mg/l de sales totales. La conductividad es casi constante durante el ciclo anual, con ligeras variaciones graduales; los valores se encuentran entre 1,9 y 2,16 mmho/cm a 25 °C. Durante gran parte del año las isopletas (gráfico no incluido en este artículo) se distribuyen columnarmente, como consecuencia de la holomixis predominante, pero durante la estratificación térmica estival la conductividad en superficie disminuye.

Alcalinidad y pH. La alcalinidad de la laguna del Sisó (véase la tabla 3) es muy alta comparada con la del lago de Banyoles, alcanzando valores de 7,62 meq/l en el fondo a finales de verano. La alcalinidad total es debida en su mayor parte (93 %) al bicarbonato, según se aprecia en el diagrama iónico (MAUCHA, 1932) de la fig. 3.

A lo largo del año se observa una clara variación estacional. Durante el invierno, la distribución es columnar, con valores medios alrededor de 6 meq/l. En la primavera hay un descenso brusco, alcanzándose los valores anuales mínimos, 4,4 meq/l. Durante el período de estratificación estival los valores medios son de 5,5 meq/l en la superficie y superiores a 7 meq/l en el hipolimnion. Por último, durante el otoño, debido a la holomixis, la distribución vuelve a ser columnar, con valores medios entre 5,5 y 6 meq/l.

A pesar de la elevada reserva alcalina,

los valores de pH oscilan entre un máximo de 8,1 a principios de mayo y un mínimo de 6,5 en septiembre. El valor medio es de aproximadamente 7,3 a 7,5 durante casi todo el año. A finales de verano (agosto) el agua se hace ligeramente ácida, hasta llegar al mínimo anteriormente citado. A partir de noviembre el agua vuelve a tener valores neutros.

Oxígeno y sulfhídrico. El oxígeno en la laguna del Sisó tiene una distribución limitada por la presencia de sulfhídrico. Toda la masa de agua es anóxica a lo largo del año excepto durante el inicio de la estratifica-

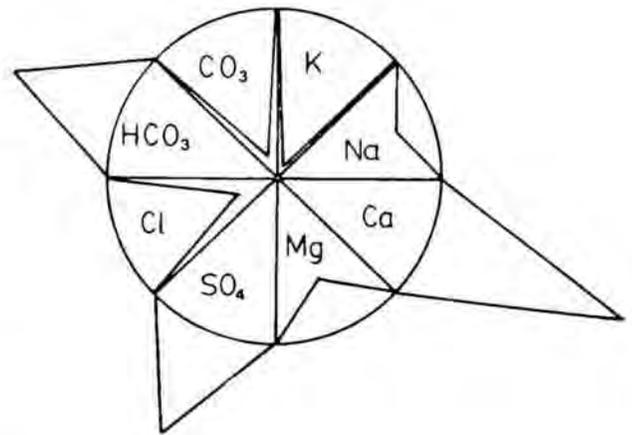


FIG. 3. Diagrama iónico (según MAUCHA, 1932) de la laguna del Sisó. (Datos correspondientes al día 25-9-77, a los 5 m de profundidad.) — *Ionic diagram (after MAUCHA, 1932) of the Sisó pond. (Data corresponding to 25-9-77, at 5 m depth.)*

ción térmica (marzo a mayo). En esta época, la concentración varía entre 1,17 y 5,8 mg/l de oxígeno disuelto, llegando la zona aeróbica hasta una profundidad de dos metros como máximo (fig. 4).

Las concentraciones de sulfhídrico (fig. 4) varían intensamente, desde valores mínimos de 15 a 18 mg/l en toda la columna a finales de febrero, hasta máximos de 198 mg/l en el fondo a finales de agosto. Excepto en el período anteriormente citado (marzo a mayo) de presencia de oxígeno hasta los 2 m, el sulfhídrico llegaba hasta la superficie, con un valor máximo de 91 mg/l a 0 m en noviembre. Durante el verano se aprecia un intenso gradiente en la concen-

tración de sulfhídrico, desde 1,5 mg/l en la superficie hasta 100 mg/l a 1 m. A partir de este nivel, aumenta gradualmente hasta los mencionados 198 mg/l en el fondo.

Finalmente, en la figura 4 puede observarse que el mínimo anual de sulfhídrico en toda la columna precede inmediatamente a la aparición de oxígeno en superficie. El mecanismo disparador de la aparición de oxígeno es con toda probabilidad la disminución de la concentración de sulfhídrico en la columna, lo cual permite la proliferación de algas fotosintéticas (*Chlorella* sp. y *Euglena* sp.). Este oxígeno desaparece cuando la concentración de H₂S vuelve a hacerse suficientemente alta (isopleta de 50 mg/l).

TABLA 3. Parámetros fisicoquímicos principales de la laguna del Sisó en cuatro días correspondientes a épocas diferentes del año. — *Main physicochemical parameters of Sisó pond in four days belonging to different seasons.*

Fecha	Profundidad (m)	Transparencia (m)	Temperatura (°C)	Conductividad (mmho/cm a 25 °C)	Alcalinidad (meq/l)	pH	Sulfatos (mg/l)	Sulfhídrico (mg/l)	Oxígeno (mg/l)	Nitratos (μmol/l)	Nitritos (μmol/l)	Amonio (μmol/l)	Fosfatos (μmol/l)
26-2-77	0	0,35	9,5	2,05	5,30	7,5	931	13,0	0	0	0,8	—	0,20
	0,2		9,5	2,06	5,32	7,5	930	13,5	0	0	0,9	—	0,23
	0,5		9,7	2,07	5,32	7,5	930	12,3	0	0	0,9	—	0,25
	1		9,8	2,07	5,36	7,5	1017	12,4	0	0	0,9	—	0,29
	3		9,5	2,03	5,04	7,4	1017	14,9	0	0	0,8	—	0,30
	5		9,5	2,04	5,04	7,4	1017	15,0	0	1,1	0,8	—	0,40
	11		9,5	2,09	5,12	7,4	768	13,9	0	0,1	0,5	—	0,40
7-5-77	0	2,30	16,0	1,83	4,50	7,7	844	0	5,3	0,5	0,5	—	1,20
	0,2		16,0	1,81	4,30	7,5	840	0	5,4	0,5	0,4	—	1,30
	0,5		15,0	1,84	4,50	7,7	844	0	5,6	0,6	0,6	—	1,30
	1		15,0	1,84	4,50	8,1	844	0	5,8	0,6	1,4	—	1,30
	3		13,2	2,09	4,90	7,8	844	13,0	1,5	0,2	0	—	0,63
	5		13,1	2,09	5,21	7,0	780	60	0	0	0	—	1,05
	11		12,5	2,08	5,13	7,0	715	64	0	0	0	—	1,05
27-8-77	0	0,30	21,4	2,10	6,20	6,9	864	0,3	0	0	0,4	1030	0
	0,2		21,0	2,12	6,20	7,0	860	71	0	0	0,4	1063	0
	0,5		19,0	2,10	6,30	6,9	865	75	0	0	0,4	1076	0
	1		18,5	2,10	6,50	6,7	935	88	0	0	0,4	1076	0
	3		18,5	2,10	6,50	6,7	435	92	0	0	0,4	1380	0
	5		15,5	2,10	7,50	6,7	422	100	0	0	0,8	1381	0
	11		15,0	2,16	7,62	6,7	787	152	0	0	0,3	1358	0
19-11-77	0	0,56	12,9	6,39	1,85	7,1	547	90	0	0	0	1285	0
	0,2		12,9	6,24	1,90	6,9	560	86	0	0	0	1492	0
	0,5		12,8	5,84	1,90	7,0	720	85	0	0	0	1428	0
	1		12,8	5,44	1,97	7,1	787	73	0	0	0	1460	0
	3		12,8	6,71	1,97	7,0	748	83	0	0	0	1460	0
	5		12,8	5,96	1,97	7,3	748	91	0	0	0	1460	0
	11		12,7	4,28	2,02	7,1	770	85	0	0	0	2063	0

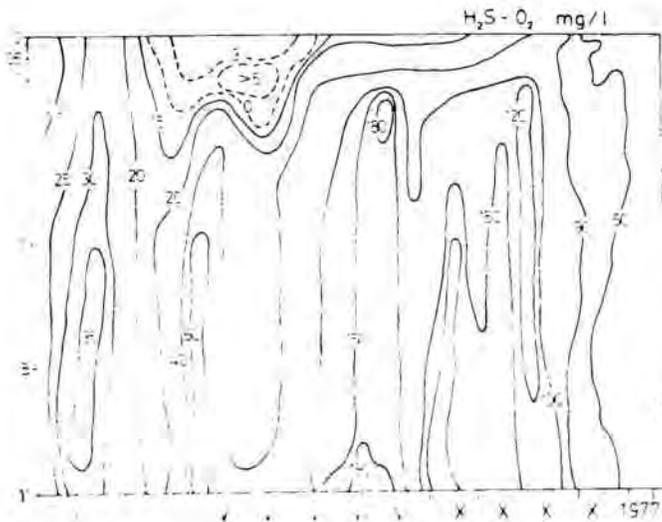


FIG. 4. Distribución de las concentraciones de oxígeno y sulfhídrico con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. Oxígeno (---); sulfhídrico (—). — *Distribution of the oxygen and sulfide concentrations according to time and depth. Oxygen (---); sulfide (—).*

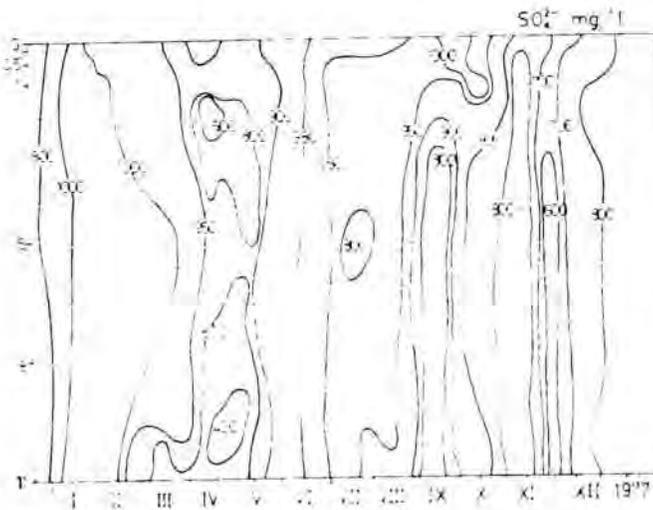


FIG. 5. Distribución de las concentraciones de sulfato con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. — *Distribution of the sulfate concentrations according to time and depth in the Sisó pond.*

Sulfatos. La concentración de sulfatos es elevada y generalmente superior a la de las profundidades medias del lago de Banyoles, aunque inferior a la concentración hipolimnética de la laguna cercana de El Vilà (GARCÍA DE EMILIANI, 1973).

En la figura 5 se observa la variación anual en las distintas profundidades. Los valores mínimos corresponden al fondo en el mes de abril (382 mg/l) y coinciden con uno de los valores máximos de oxígeno (5,3 mg/l a 1 m de profundidad). Durante

el período de estratificación térmica, la concentración de sulfato es mayor en el metalimnion (1975 mg/l) que en el hipolimnion (787 mg/l), comportamiento inverso al del bicarbonato y sulfhídrico. El sulfato es el anión más importante, junto con el bicarbonato, en el agua del Sisó (véase la fig. 3) y es quien determina principalmente las especiales características de la laguna.

NUTRIENTES

Fosfatos. La concentración de fosfatos tiene grandes oscilaciones a lo largo del año (fig. 6). Varía desde cantidades indetectables (en verano) hasta dos máximos, uno a finales de marzo (con $5,8 \mu\text{mol/l}$) y otro a principios de octubre (con $5,5 \mu\text{mol/l}$). Estos máximos coinciden con un aumento del sulfhídrico, que alcanza concentraciones superiores a 50 y 150 mg/l, respectivamente.

Nitrato, nitrito y amonio. El nitrato (fig. 7) es el compuesto de nitrógeno que se encuentra en menor concentración, debido, probablemente, a la desnitrificación bacteriana, y es indetectable la mayor parte del año. Los valores máximos se alcanzan en las capas superiores durante el período en que existe oxígeno ($1,36 \mu\text{mol/l}$ a 1 m en abril). Solamente en septiembre existe nitrato en toda la columna; las concentraciones disminuyen progresivamente desde la superficie ($0,8 \mu\text{mol/l}$) hasta el fondo ($0,36 \mu\text{mol/l}$). Este hecho coincide con el aumento de sulfhídrico mencionado anteriormente (compárense las figuras 7 y 4).

El nitrito se encuentra en bajas concentraciones. Varía entre 0 y $2 \mu\text{mol/l}$, siendo los valores medios durante gran parte del año de $0,5 \mu\text{mol/l}$ (véase la tabla 3).

El amonio (tabla 3) se presenta siempre en altas concentraciones (máximo de $2063 \mu\text{mol/l}$ a mediados de noviembre, en el fondo). A lo largo de la columna, la concentración de amonio es más baja en la superficie y va aumentando progresivamente hacia el fondo.

CATIONES

En la figura 3 se presenta el diagrama iónico de MAUCHA (1932) correspondiente al día 25-9-77, a los 5 m de profundidad.

En él se observa, con respecto a los cationes, un predominio del Ca^{2-} (350 mg/l) y del Mg^{2-} (45 mg/l) seguidos por el Na^- (29 mg/l). El K^- es el que se encuentra en menor concentración (1,5 mg/l).

La concentración de micronutrientes como el Fe y el Mn (4,5 y 0,1 mg/l, respectivamente) es muy baja durante todo el año. La falta de estos cationes se explica por la presencia de sulfhídrico que forma sales insolubles, las cuales precipitan en el sedimento como sulfuros metálicos.

RECUELTOS BACTERIANOS

Bacterias predominantes. En la laguna del Sisó se encuentran en gran número tres especies de bacterias fotosintéticas, una cromatiácea y dos clorobiáceas. La determinación de las tres especies fue realizada teniendo en cuenta sus características morfológicas y estructurales, observadas por microscopía óptica y electrónica, y el espectro de absorción de sus pigmentos (PFENNING, 1977).

Una de las bacterias es un bacilo ovalado gramnegativo, con flagelación polar y con gránulos de azufre en el interior. Los pigmentos fotosintéticos (bacterioclorofila *a* y carotenoides) se encuentran en membranas internas de tipo vesicular, tal como se ha observado en micrografías electrónicas. Vive en ambientes anaerobios y es capaz de fotosintetizar en presencia de H_2S . Corresponde al género *Chromatium*. Las células individuales miden $5 \times 2,5 \mu\text{m}$ y tienen uno o dos flagelos polares; los gránulos de azufre (en número de 8 a 10) se encuentran repartidos uniformemente en el citoplasma. Debido a estas características y al espectro de absorción de sus pigmentos, la especie fue determinada tentativamente como *Chromatium violascens*.

Las otras dos bacterias son también gramnegativas, en forma de bacilos cortos o vibrios, inmóviles, sin gránulos de azufre en el interior. Los pigmentos fotosintéticos (bacterioclorofilas *c* o *d* y carotenoides) se encuentran en vesículas típicas, tal y como se observa claramente (así como la ausencia de inclusiones de azufre) en las micrografías electrónicas. Viven en ambientes anaerobios y son capaces de realizar fotosíntesis en pre-

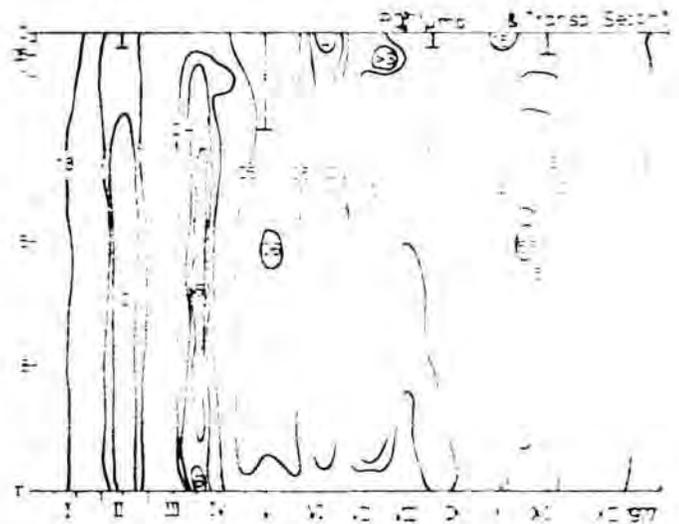


FIG. 6. Distribución de las concentraciones de fosfato con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. Se incluye la transparencia medida con el disco de Secchi (\perp). — Distribution of the phosphate concentrations according to time and depth in the Sisó pond. Transparency, measured with Secchi disk (\perp), is included.

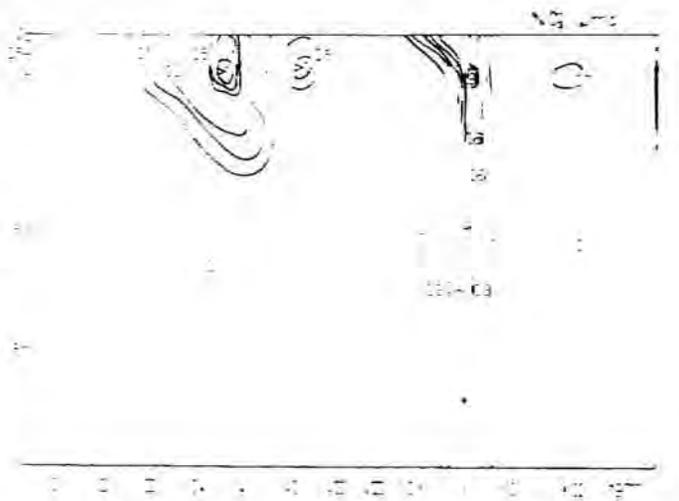


FIG. 7. Distribución de las concentraciones de nitrato con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. — Distribution of the nitrate concentration according to time and depth in the Sisó pond.

sencia de H_2S . Ambas pueden considerarse como pertenecientes al género *Chlorobium*.

La morfología celular es de dos tipos: el primero corresponde a bacilos rectos o algo curvados, de $2,0 \times 1,1 \mu\text{m}$, de color verdoso, frecuentemente en cadenas cortas (3 a 4 individuos) que se unen con otras cadenas por medio de sustancias mucilaginosas formando microcolonias de 30 a 40 células. La especie fue determinada tentativamente como *Chlorobium limicola*. El segundo tipo corresponde a células aisladas en forma de

vibrio, claramente semilunares, de $1,8 \times 0,8 \mu\text{m}$, y con un pico de absorción coincidente con el de carotenoide isorrenierateno. La especie fue determinada tentativamente como *Chlorobium phaeovibrioides*.

Dinámica de las poblaciones bacterianas. En las figuras 8 y 9 se presenta la evolución de la población de los dos géneros de bacterias predominantes. La densidad bacteriana fue medida en número de células por mililitro, después del recuento microscópico a $1000 \times$ sobre filtros de membrana.

La población de *Chromatium* (fig. 8) sufre grandes variaciones. Es cero en tres ocasiones y/o profundidades: primero, en las capas de agua con oxígeno (primavera; véase también la fig. 4); segundo, en el epilimnion (0 a 0,3 m) durante el período de estratificación térmica (verano; véase también la fig. 2); y tercero, en el fondo de la cubeta (entre 10 y 11 m), asimismo durante el verano y hasta mediados de octubre. Los valores máximos, de $3,4 \times 10^7$ cél./ml, se encontraron en el metalimnion (0,3 a 2 m) a principios de septiembre.

Durante los meses de enero y febrero el agua de toda la columna era de color rojo intenso, apreciándose el color también en la superficie. A lo largo de todo el año se ha observado que la coloración roja viene determinada por concentraciones de *Chromatium* superiores al millón de células por mililitro (isopleta de 100, fig. 8).

Durante la primavera, *Chromatium* se sitúa desde los 2 m hasta el fondo, debido a la presencia de oxígeno en la superficie. Desde junio a septiembre, los valores máximos dentro de la columna se encuentran en el metalimnion, mientras que en el hipolimnion la densidad de esta bacteria desciende drásticamente hasta hacerse cero a los 10 m de profundidad. A partir de octubre la población de *Chromatium* va disminuyendo rápidamente, hasta estabilizarse en valores bajos de 15×10^4 cél./ml en noviembre-diciembre.

En la laguna del Sisó, junto con las poblaciones de *Chromatium* (Cromatiáceas), aparecen también como bacterias fotosintéticas predominantes dos especies pertenecientes al género *Chlorobium* (Clorobiáceas), *Chlorobium limicola* y *Chlorobium phaeovibrioides*. En la figura 9 se presenta la evo-

lución de la población de *Chlorobium* spp. a lo largo del año, a diferentes profundidades. Estas bacterias se encuentran ausentes únicamente en primavera en las capas superiores (0-2 m), debido a la presencia de oxígeno. El resto del año las densidades máximas corresponden a dos poblaciones distintas: una atribuible casi exclusivamente a *C. limicola*, con 3×10^7 cél./ml, entre 3 y 8 m a principios de abril, y otra, correspondiente a *C. phaeovibrioides* y *C. limicola*, con 5×10^7 cél./ml, desde octubre a diciembre en la superficie (0 a 20 cm) y a finales de noviembre a los 5 m de profundidad.

Durante los meses de enero y febrero, *Chlorobium limicola* coexiste con *Chromatium violascens* en toda la columna, y durante la primavera tan sólo a partir de los 2 m (compárense las figs. 8 y 9). Durante el mes de junio la densidad disminuye hasta 5×10^6 cél./ml, coincidiendo con el ascenso de *Chromatium* al metalimnion. Durante todo el verano la población predominante en el hipolimnion corresponde a *Chlorobium limicola*, con concentraciones alrededor de 10^7 cél./ml, lo cual (junto con la baja densidad de *Chromatium*) determina el color verde del agua. A partir de finales de septiembre, y coincidiendo con la desaparición gradual de la estratificación, se presenta un

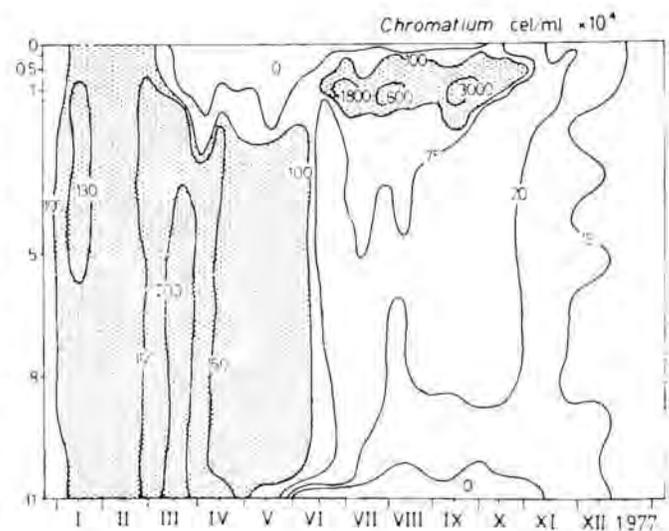


FIG. 8. Distribución de la densidad de la población de *Chromatium violascens* con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. — Distribution of the *Chromatium violascens* population density according to time and depth in the Sisó pond.

aumento progresivo de la población anterior y de la de *Chlorobium phaeovibrioides*, que aumentan de densidad rápidamente en toda la columna hasta alcanzar el máximo anteriormente citado. Este hecho determina el color verde negruzco del agua durante los meses de noviembre y diciembre.

DISCUSIÓN

En la laguna del Sisó la variación estacional de los parámetros fisicoquímicos, y la propia estructura y aislamiento de la cubeta, tienen gran influencia sobre la evolución de las poblaciones de bacterias fotosintéticas. En un sentido amplio, podríamos comparar esta laguna con un quemostato natural en el que la composición relativa de la población bacteriana vendría determinada por la concentración de los compuestos de azufre (directamente por el H_2S e indirectamente por el SO_4^{2-}), y la distribución espaciotemporal de las poblaciones por la concentración de H_2S y por la variación de los factores temperatura, iluminación y oxígeno. Esta compleja interrelación produce un equilibrio dinámico de recambio poblacional, equilibrio que, dentro de unos ciertos límites, se mantiene a un nivel alto de biomasa y productividad primaria bacterianas.

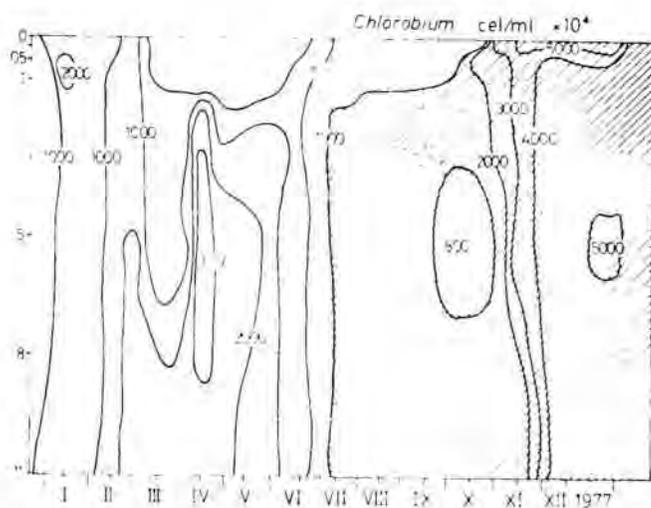


FIG. 9. Distribution de la densidad acumulada de la población de *Chlorobium limicola* y de *Chlorobium phaeovibrioides* con respecto a la profundidad y al tiempo en la laguna del Sisó. — Distribution of the accumulated *Chlorobium limicola* and *Chlorobium phaeovibrioides* population density according to time and depth in the Sisó pond.

El estudio quincenal de los parámetros fisicoquímicos y de las poblaciones bacterianas predominantes nos ofrece la oportunidad de observar, de una manera fina, la dinámica del conjunto, de analizar las posibles interrelaciones y de buscar los factores reguladores del ciclo.

La estructura y dinámica de las poblaciones bacterianas predominantes están reguladas por la estructura fisicoquímica estacional de la masa de agua, siendo los principales factores la temperatura, el oxígeno y la concentración de H_2S , tal como discutiremos más adelante.

Los nutrientes (fosfato y nitrato) se distribuyen en relación con la densidad de la población de bacterias fotosintéticas. El fosfato se encuentra presente durante gran parte del año, aunque a concentraciones muy bajas (fig. 6), excepto dos máximos, relacionados con el descenso de la densidad de *Chromatium* y la lisis celular consiguiente. El nitrato está prácticamente ausente del agua (fig. 7), excepto en la superficie durante el período de oxigenación y al principio de la holomixis (septiembre), cuando la población de *Chromatium* casi desaparece.

El amonio se encuentra en altas concentraciones durante todo el año (tabla 3), situación típica en las aguas anaeróbicas. Este ión constituye la principal fuente de nitrógeno para las poblaciones fotosintéticas de la laguna del Sisó.

La elevada reserva alcalina del Sisó es debida, por una parte, a la existente en el agua de entrada y, por otra, a la formación, en un ambiente permanentemente anaeróbico, de bicarbonato amónico a partir del sedimento (OHLE, 1952). Esta abundante reserva alcalina permite una elevada producción fotosintética bacteriana, y no es en ningún caso factor limitante de la misma.

La producción de sulfhídrico en condiciones naturales es linealmente dependiente de la concentración de sulfato (OHLE, 1955), y, por lo tanto, siempre que éste no se encuentre en concentraciones limitantes es posible afirmar que las disminuciones de sulfato detectadas a lo largo del año implican una disminución de la producción y concentración de sulfhídrico en el agua y una redistribución de las comunidades bacterianas fotosintéticas. Esto también es válido en el

caso opuesto, en el sentido de que el mantenimiento de unas concentraciones elevadas de sulfato permite un aumento de la concentración de sulfhídrico y diferentes distribuciones de las poblaciones bacterianas.

El sulfato, desde este punto de vista, actúa como catalizador de los procesos biológicos del agua, e incluso del ciclo de nutrientes. La disminución de sulfato detectada al inicio de la estratificación térmica durante la oxigenación de las capas superficiales puede relacionarse con toda probabilidad con un aporte de sulfato en profundidad inferior al del resto del año. Este descenso se explicaría por un aumento del flujo del agua circulante en primavera y, en consecuencia, de la entrada de agua con menor concentración de sulfato.

Las características fisicoquímicas (especialmente en cuanto a la dinámica sulfato-sulfhídrico) de la laguna del Sisó son muy parecidas al monimolimnion de la cubeta meromítica del lago de Banyoles, tal como ha sido descrita en un artículo anterior (GUERRERO *et al.*, 1978).

La variación de las poblaciones bacterianas sigue a la de los parámetros fisicoquímicos principales. Durante los meses de enero y febrero existe holomixis, con una temperatura media de 12 °C, ausencia de oxígeno en superficie y entre 20 y 30 mg/l de H₂S. Este conjunto de factores permite un buen crecimiento de las bacterias fotosintéticas de los géneros *Chromatium* y *Chlorobium*. La densidad de uno y otro es, respectivamente, de $1,3 \times 10^6$ cél./ml y 1×10^6 cél./ml, distribuidas uniformemente. Dado que la concentración de H₂S está dentro del óptimo de las dos bacterias (en toda la columna) y que la intensidad de la luz no es excesiva, la población bacteriana llega hasta la misma superficie, dominando el color rojo intenso de la gran masa de *Chromatium*.

Durante los meses de marzo a mayo se inicia el período de estratificación (con una temperatura de 16 °C en superficie y de 13 °C en el fondo), existe oxígeno hasta los 2 m de profundidad y la concentración de H₂S se mantiene entre 20 y 40 mg/l. En consecuencia, las bacterias fotosintéticas se sitúan a partir de los 2 m de profundidad, con densidad uniforme hasta el fondo. *Chromatium* ha aumentado algo su densidad

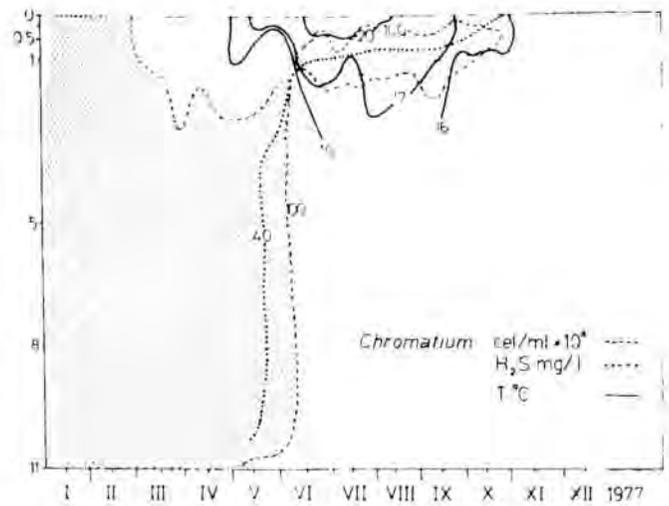


FIG. 10. Distribución de las densidades de *Chromatium violascens* superiores a 10^6 cél./ml (coloración roja del agua) en relación con las isoplethas de temperatura que definen la termoclina, de oxígeno disuelto y de la concentración de H₂S (40 mg/l) que constituye el límite superior del óptimo para *Chromatium*. — Distribution of the *Chromatium violascens* densities over 10^6 cell/ml ("red water") in relation to temperature isopleths defining thermocline, dissolved oxygen and sulfide concentration (40 mg/l), which is the limit of optimum for *Chromatium*.

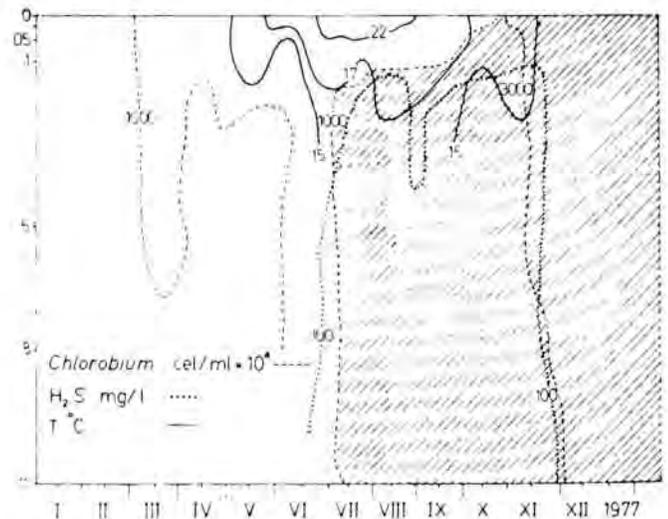


FIG. 11. Distribución de las densidades de *Chlorobium* spp. superiores a 10^7 cél./ml en relación con las isoplethas de temperatura que definen la termoclina, de oxígeno disuelto y de las concentraciones de H₂S superiores a 100 mg/l. — Distribution of the *Chlorobium* spp. densities over 10^7 cell/ml in relation to the temperature isopleths defining thermocline, dissolved oxygen and sulfide concentration over 100 mg/l.

($1,6 \times 10^6$ cél./ml) con respecto a la etapa anterior, y *Chlorobium* lo ha hecho significativamente ($2,5 \times 10^6$ cél./ml). Como consecuencia de todo ello, el agua de la superficie es transparente (situación única en el

conjunto del año) y desde los 2 a los 11 m el color es rojo intenso.

Durante los meses de junio a septiembre se da una intensa estratificación térmica. No obstante, en el epilimnion no existe oxígeno, debido al ascenso de cantidades suficientes de H_2S . La población bacteriana se distribuye en dos masas de diferente espesor y concentración relativa. En la primera, *Chromatium* se sitúa dentro del metalimnion, con una cierta expansión-contracción de las densidades máximas (fig. 8), con valores comprendidos entre $1,5 \times 10^6$ y $3,4 \times 10^7$ cél./ml, mientras que *Chlorobium* (fig. 9), alcanza valores de 10^6 cél./ml. En la segunda, correspondiente a todo el hipolimnion, *Chlorobium* se mantiene a la misma concentración de 10^6 cél./ml, mientras que *Chromatium* va disminuyendo rápidamente hasta hacerse cero en el fondo. En el epilimnion (0-30 cm) no se observan células de *Chromatium*, mientras que *Chlorobium* se encuentra en concentraciones inferiores a 10^4 cél./ml.

Finalmente, a partir de octubre, aparece de nuevo holomixis, con temperaturas inferiores a $13^\circ C$. El H_2S alcanza en superficie valores máximos de 90 mg/l, concentración que está muy por encima del óptimo de *Chromatium*. Este hecho determina que la población bacteriana esté compuesta casi exclusivamente por las dos especies de *Chlorobium* citadas anteriormente, siendo la concentración de *Chromatium* inferior a 10^4 cél./ml, lo cual hace que el agua en toda la columna sea de color verde negruzco. En general, siempre que la concentración de *Chlorobium* sea superior a 10^7 cél./ml, y la de *Chromatium* inferior a 10^6 cél./ml, la masa de agua aparecerá de color verdoso.

En las figuras 10 y 11 se presentan los máximos de la población de *Chromatium* y *Chlorobium* en relación con las isoplethas significativas que causan la distribución de las densidades respectivas de las dos. El comportamiento de las dos poblaciones es diferente de acuerdo con las características morfológicas y fisiológicas de cada organismo. *Chromatium* sufre importantes variaciones tanto en cuanto al número como a su distribución en la columna de agua. Esto se debe a que su desarrollo no es óptimo para concentraciones de H_2S superiores a

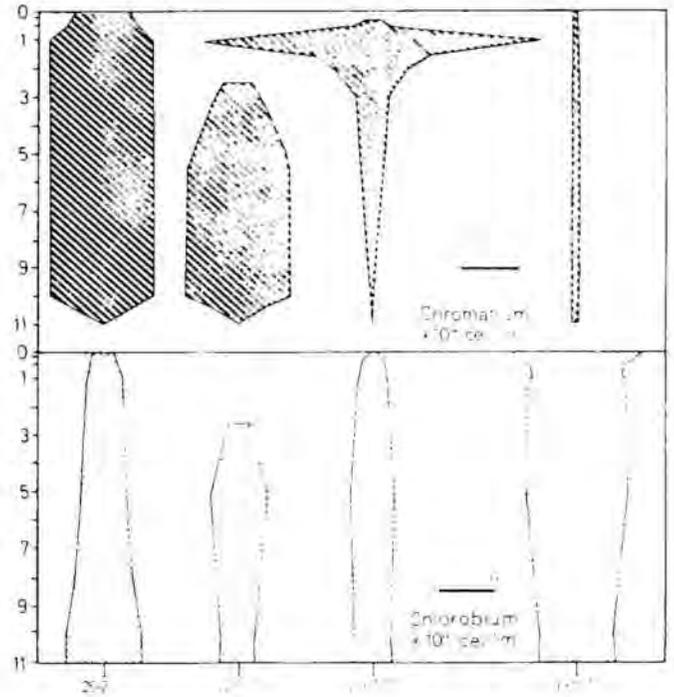


FIG. 12. Comparación entre las densidades y distribución en profundidad de *Chromatium* y *Chlorobium* en cuatro épocas del año en la laguna del Sisó. (La escala diferente refleja la distinta biomasa: cada célula de *Chromatium* tiene una biomasa aproximadamente equivalente a veinticinco células de *Chlorobium*.) — Comparison between densities and distribution in depth of *Chlorobium* and *Chromatium* during four seasons in the Sisó pond. (The different scale reflects the different biomass: each *Chromatium* cell has a biomass being approximately that of twenty five *Chlorobium* cells.)

40 mg/l y a que su movimiento flagelar activo le permite desplazarse arriba y abajo para encontrar su óptimo según las condiciones fisicoquímicas presentes. *Chlorobium*, en cambio, es inmóvil, y se desarrolla en márgenes más amplios de concentraciones de H_2S , lo cual hace que sólo pueda aumentar o disminuir en número (aunque nunca descienda de 5×10^6 cél./ml), alcanzando su máxima densidad poblacional en el segundo período de holomixis, cuando *Chromatium* ha disminuido suficientemente y no puede competir con él.

Todo ello nos conduce a definir en la laguna del Sisó cuatro tipos de distribución de las poblaciones bacterianas predominantes, durante el proceso estudiado. En la figura 12 pueden apreciarse las diferentes densidades y la distribución de *Chromatium* y *Chlorobium*. La escala es veinticinco veces menor en el caso de la segunda, con objeto de comparar, aunque sea de modo aproximado, la contribución a la biomasa total

de cada una de las bacterias; cada célula de *Chromatium* equivale a unas veinticinco células de *Chlorobium* de cualquiera de las dos especies observadas. Las escalas de la figura 12 indican también el color aparente del agua: ésta es roja siempre que la concentración de *Chromatium* es superior a la indicada por el trazo grueso de $(2 \times 50) \times 10^4$ cél./ml, y verde cuando la concentración de *Chlorobium* es superior a la indicada por el trazo grueso de $(2 \times 500) \times 10^4$ cél./ml (a menos que exista *Chromatium* en la concentración antes mencionada).

En el primer tipo de distribución (enero-febrero) domina *Chromatium* sobre *Chlorobium* en toda la columna, y el agua es roja hasta la superficie. En el segundo (marzo a mayo), desaparecen ambas bacterias de la superficie, pero a partir de los 30 cm sigue dominando *Chromatium* y el agua continúa siendo roja. En el tercer tipo de distribución (junio a septiembre) *Chromatium* se desplaza hasta encontrar el óptimo de condiciones (H_2S e iluminación) en el metalim-

nion, mientras que *Chlorobium* disminuye algo su densidad, pero se mantiene constante en toda la columna; *Chromatium* llega sólo hasta 30 cm de la superficie, a pesar de que en ésta existe suficiente concentración de H_2S , debido, probablemente, a la excesiva iluminación estival; *Chlorobium* llega hasta la superficie, pero en bajas concentraciones. Finalmente, en el cuarto tipo de distribución, la situación es inversa a la del principio; *Chlorobium* predomina sobre *Chromatium* en toda la columna, y las densidades de ambos son bastante uniformes desde la superficie hasta el fondo, siendo el color del agua verde oscuro.

El programa de muestreo quincenal en sentido vertical y el estudio detallado de los factores fisicoquímicos del agua y de las densidades de las bacterias predominantes en la laguna del Sisó, han permitido hacerse una idea clara de la dinámica de las poblaciones de bacterias fotosintéticas, de las diferentes estrategias de las especies integrantes y de los principales factores que las regulan.

SUMMARY

SPATIAL AND TEMPORAL DYNAMICS OF BACTERIAL PHOTOSYNTHETIC POPULATIONS IN AN ANAEROBIC POND OF SULFUROUS WATER. — The Sisó pond is a small eutrophic water body located near Banyoles Lake (Gerona, Spain), and a part of the same karstic system. A set of physicochemical and biological parameters (temperature, conductivity, pH, transparency, alkalinity, sulfate, sulfide, nitrate, ammonia, phosphate, several cations, pigments and bacterial densities) have been measured every fifteen days. The evolution of the photosynthetic bacterial population, composed mainly by *Chromatium violascens*, *Chlorobium limicola* and *Chlorobium phaeovibrioides*, has been followed. The two genera present different strategies: *Chromatium* is able of active motion and can move in search of its H_2S optimum; *Chlorobium* is immotile and adapts itself to a broader range of H_2S concentration and illumi-

nation. Therefore, *Chromatium* is the dominant bacteria in the Sisó pond when the H_2S concentration is between 20 and 40 mg/l; it reaches the surface in winter time (January-February), when the illumination is low. Correspondingly, *Chlorobium* is the dominant bacteria when the H_2S concentration is over 50 mg/l and reaches the surface in summer and fall time. Thus, the chemical compound which determines the bacterial population composition is sulfide; its concentration depends on other factors, as sulfate and temperature, and its vertical distribution on the seasonal thermal structure of water. The set of physicochemical factors determines the dynamics and behavior of the bacterial populations, being observed as changes in the water coloration, either red or green water, or bacterial plates of sulfur bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

- ANAGNOSTIDIS, K. & OVERBECK, J. — 1966. Methanoxydirer und hypolimnische Schwefelbakterien. Studien zur ökologischen Biocenotic der Gewässermikroorganismen. *Ber. Deut. Botan. Ges.*, 79(3): 165-174.
- BAAS BECKING, L. G. M. — 1925. Studies on the sulphur bacteria. *Ann. Bot. Soc. Lond.*, 39: 613-650.
- COHEN, Y., KRUMBEIN, W. E., & SHILO, M. — 1977. Solar lake (Sinai). 2. Distribution of photosynthetic microorganisms and primary production. *Limnol. Oceanogr.*, 22: 609-634.
- CULVER, D. A., & BRUNSKILL, G. J. — 1969. Fayetteville Green Lake, New York. V. Studies of primary production and zooplankton in a meromictic marl lake. *Limnol.*

- Oceanogr.*, 14: 862-873.
- DRABKOVA, V. G. — 1965. Dynamics of the bacterial number, generation time and production of bacteria in the water of a red lake. *Mikrobiologiya*, 34:933-958.
- FORTI, A. — 1932. Il «Lago di sangue» a Pergusa in Sicilia e la prima piaga d'Egitto. *Nat. Sicil., N. S.*, 8: 63.
- GARCÍA DE EMILIANI, M. O. — 1973. Fitoplánton de la laguna del Vilà (Gerona, España). *Oecol. aquatica*, 1: 107-155.
- GENOVESE, S. — 1963. The distribution of the H₂S in the lake Faro (Messina) with particular regard to the presence of «red water». En: C. H. Oppenheimer (ed.). *Symposium on marine microbiology*, pp. 194-204. Ch. C. Thomas. Springfield, Illinois.
- GOLTERMAN, H. L. (ed.). — 1969. *Methods for chemical analysis of fresh waters*. I.B.P. Handbook n.º 8. Blackwell. Oxford.
- GUERRERO, R., ABELLÀ, C. & MIRACLE, M. R. — 1978. Spatial and temporal distribution of bacteria in a meromictic karstic lake basin: relationships with physicochemical parameters and zooplankton. *Verh. Intern. Verein. Limnol.*, 20 (en prensa).
- HUTCHINSON, G. E. — 1957. *A treatise on limnology*. Vol. I. John Wiley & Sons. New York.
- MAUCHA, R. — 1952. Hydrochemische Methoden in der Limnologie. *Binnengewasser*, 12.
- OHLE, W. — 1952. Die hypolimnische kohlendioxyde-Akkumulation als productions-biologischen indikator. *Arch. Hydrobiol.*, 46: 153-285.
- 1955. Die Ursachen der rasanten Seeneutrophierung. *Verh. Intern. Verein. Limnol.*, 11: 373-382.
- PFENNING, N. — 1977. Phototrophic green and purple bacteria: A comparative, systematic survey. *Ann. Rev. Microbiol.*, 31: 275-290.
- RUTTNER, F. — 1937. Limnologische studien an einigen Seen der Ostalpen. *Arch. Hydrobiol.*, 32: 167-319.
- STRICKLAND, J. D. H. & PARSONS, T. H. — 1968. A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.*, 167.
- TAKAHASHI, M., & ICHIMURA, S. — 1968. Vertical distribution and organic matter production of photosynthetic sulfur bacteria in japanese lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 13: 644-655.