

REPORTE DE INVESTIGACIÓN

**del
Instituto de
Zoología**

No. 26

M. A. PUBILLONES, M. PÉREZ-EIRIZ, y V. I. ROMANENKO

**Las bacterias oxidadoras de metano
en el sistema radical
del jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*)
en tres embalses de Cuba**

OCTUBRE DE 1986



**ACADEMIA DE CIENCIAS
DE CUBA**

Las bacterias oxidadoras de metano en el sistema radical del jacinto de agua (Eichhornia crassipes) en tres embalses de Cuba¹

M. A. PUBILLONES², M. PÉREZ-EJIRIZ², y V. I. ROMANENKO³

RESUMEN. Se determinó la intensidad potencial del proceso de oxidación de metano por la biocenosis bacteriana presente en la rizosfera de Eichhornia crassipes, en tres embalses de Cuba, y se comparó con la intensidad del mismo proceso en el agua libre. Se estableció la morfología de las bacterias cuyo nicho estructural lo constituyen las raíces de esta planta. Se encontró que una raíz utiliza 0,38-6,89 mg O₂/1/día en el proceso de oxidación de metano, y que estos valores son 3-5 veces superiores que en el agua libre. Se presentan las fotografías de las formas bacterianas más comúnmente encontradas en la rizosfera de Eichhornia, en cada uno de los embalses investigados.

1. INTRODUCCIÓN

Eichhornia crassipes (Mart) Solms es una planta flotante que posee un amplio desarrollo del sistema radical cuyas características fueron analizadas por Center y Spencer (1981) para un lago de la Florida. En Cuba, la longitud de las raíces varía de acuerdo con el tamaño de la planta, y promedia 10-25 cm. Generalmente, cada sistema radical tiene entre cinco y siete ramificaciones que se originan a partir de la raíz principal, la cual tiene forma de un cepillo cónico alargado, con las porciones más jóvenes de color rosado y las más viejas de color negro; en ellas se concentran las partículas en suspensión, en grandes cantidades, así como el detrito, sobre todo el de origen vegetal.

¹Manuscrito aprobado en junio de 1985.

²Instituto de Zoología, Academia de Ciencias de Cuba.

³Instituto de Biología de Aguas Interiores, Academia de Ciencias de la URSS.

La capacidad mecánica de las raíces para purificar las aguas de las partículas en suspensión es una cuestión de gran importancia, sobre todo para la calidad del agua en los embalses de abasto, por lo que debería investigarse más profundamente. En los embalses en los que está presente esta planta, el viento tiende a agruparla y puede llegar a constituir islas flotantes, a veces muy tupidas, concentrando en su traslado sobre la superficie del agua las partículas en suspensión, en la forma indicada anteriormente (Trivedy et al., 1978).

Las características de las poblaciones de bacterias epífitas de las plantas flotantes se han estudiado poco (Allen, 1971; Hossell, 1977; Hossell y Baker, 1979a, b), y menos aún las epífitas del sistema radical de Eichhornia crassipes. Iswaran (1973) reportó la existencia de la bacteria Azotobacter chroococcum en el sistema radical de esta planta, lo que más tarde confirmó Purchase (1977). La gran abundancia de bacterias presentes en su sistema radical puede demostrarse por el intenso cubrimiento bacteriano observado en portaobjetos situados en contacto directo con raíces finas de la planta durante 24 horas, y que puede apreciarse en la Fig. 1A. Esta biocenosis bacteriana es fundamentalmente aeróbica, y por esta razón el cubrimiento se produce en el perímetro externo de la raíz.

Durante el estudio de la microflora de las raíces de esta planta en los embalses de Cuba, con el fin de establecer su influencia sobre la calidad de las aguas, se encontró que en las biocenosis bacterianas que ocupan este nicho estructural se hallaba una gran concentración de bacterias oxidadoras de metano, sin que pudiéramos encontrar en la literatura a nuestra disposición ningún trabajo que estudiara esta problemática.

El objetivo de esta investigación fue determinar la intensidad potencial del proceso de oxidación de metano por la biocenosis bacteriana presente en el sistema radical de Eichhornia crassipes, en tres embalses de Cuba, en los que esta planta constituye el macrófito más importante, y comparar estos valores con la intensidad del mismo proceso en el agua libre. También se pretendió establecer la morfología de las bacterias asociadas a sus raíces.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los embalses investigados fueron Mañana de Santa Ana y Jimaguayú, en la Provincia de Camagüey, y La Yaya, en la Provincia de Guantánamo. Se utilizó el método desarrollado por Kuznetsov (1952) para el agua, y se valoró el oxígeno por el método de Winkler. El diseño de muestreo fue el siguiente: Se tomó un volumen grande de agua de la superficie del embalse, y se agitó hasta saturación. Por medio de un sifén, se llenaron cuatro frascos de 70 cm³ de capacidad cada uno, en dos de los cuales se determinó inmediatamente el contenido de oxígeno que se consideró como inicial. A los otros dos se les adicionó 0,5 cm³ de metano, con el fin de permitir el desarrollo de las bacterias metano-oxidantes. Estos dos frascos se guardaron para incubarlos en la oscuridad con el resto de las muestras. A continuación se tomaron cinco plantas del mismo tamaño aproximadamente, y se cortó y lavó cuidadosamente una raíz de cada una en 1 l de la misma agua usada previamente para llenar los primeros frascos.

De cada litro se sifoneó el agua a seis frascos de igual volumen (70 cm³). En dos de ellos se determinó de nuevo el contenido de oxígeno inicial; a los otros dos se les adicionó 0,5 cm³ de metano, y los dos restantes se utilizaron como control para descontar el oxígeno consumido por la descomposición bacteriana en el agua. Estos cuatro frascos se incubaron en la oscuridad, en el embalse, conjuntamente con los dos que se habían llenado inicialmente y a los cuales se había añadido metano; éstos se usaron para poder calcular la intensidad potencial de oxidación de metano por la microflora del agua. Las muestras se incubaron durante un período que fluctuó entre 5 y 9 horas, en dependencia del tipo de embalse, y los valores se recalcularon para 24 horas. El cálculo se realizó de la siguiente manera: $A - B = C$; $D - E - F = G$; $G - C = H$; donde,

A - Contenido de oxígeno inicial en las muestras de agua del embalse, sin raíces.

B - Contenido de oxígeno de las muestras de agua del embalse, sin raíces y con metano, incubadas en la oscuridad.

- C - Intensidad potencial del proceso de oxidación de metano en el agua.
- D - Contenido de oxígeno inicial en la muestra con raíces.
- E - Contenido de oxígeno en el control con raíces y sin metano.
- F - Contenido de oxígeno en las muestras con raíces y con metano.
- G - Intensidad potencial del proceso de oxidación de metano por la microflora del agua y de las raíces de Eichhornia.
- H - Intensidad potencial del proceso de oxidación de metano por la microflora de las raíces de Eichhornia.

Para las fotografías de las bacterias epífitas de las raíces finas se empleó el método de contacto reportado por Romanencko et al. (1982). La morfología de las bacterias epífitas se estableció en preparaciones elaboradas según la técnica de Shmanev y Kuznetsov (1976), y las observaciones se realizaron en el microscopio electrónico del Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se ofrecen las características hidrológicas más importantes de los tres embalses donde se colectaron las plantas de Eichhornia. En la Tabla 2 se dan los valores promedio obtenidos para la intensidad potencial de oxidación de metano en el agua y en la rizosfera de Eichhornia.

De los resultados obtenidos puede apreciarse la gran cantidad de oxígeno utilizado por la microflora, ya que una raíz de esta planta empleó para la oxidación de metano una cantidad de oxígeno que fluctuó entre 0,38 y 6,89 mg O₂/1/24 horas.

Pubillones y Pérez-Eiriz (en prensa) reportan que en los embalses de Cuba se produce con intensidad el proceso de formación de biogás por las biocenosis bacterianas del sedimento. Este proceso se produce con especial intensidad en aquellos embalses a los cuales llega una gran cantidad de residuos vegetales ricos en celulosa, como hojas y hojarasca, especialmente en época de lluvia. Sin embargo, los valores obtenidos por estos autores para el proceso de oxidación de metano resultan entre tres y cinco veces inferiores a los que se encuentran en las raíces de la Eichhornia, pero muy superiores a los reportados para la intensidad de este proceso en el agua de los acuatorios de países templados, según Kuznetsov (1952) y Krasheninikova (1959).

El mecanismo de purificación de metano por la biocenosis bacteriana de las raíces de Eichhornia consiste esencialmente en que las burbujas de biogás que ascienden del fondo quedan retenidas en la red formada por la rizosfera de esta planta, que, como ya dijimos, llega a constituir un verdadero colchón sobre el agua, donde es oxidada por las bacterias metano-oxidantes antes de que logre pasar a la atmósfera. Este proceso es favorecido por la abundante cantidad de oxígeno en el agua de la superficie, que permite el desarrollo exitoso de estas bacterias aeróbicas.

En las raíces de Eichhornia se desarrolla también intensamente la microflora heterótrofa, como lo demuestran los altos valores obtenidos para la asimilación heterotrófica en el agua en que se lavaron las raíces. Por ejemplo, en el Embalse La Yaya la asimilación heterotrófica de CO_2 en el agua fue de $4,4 \mu g C/1/día$, mientras que en el agua con el lavado de una raíz fue de $0,9 \mu g C/1/día$.

En general, puede decirse que las raíces de Eichhornia constituyen un nicho ecológico importante ocupado por una biocenosis microbiana típica y muy rica, que es ampliamente utilizada por el perifiton animal, muy abundante en las mismas, según V. Hruska (comunicación personal). Por su elevado contenido de materia orgánica, su gran abundancia en microorganismos, y la intensidad con que se desarrollan sus procesos vitales, puede decirse que el

sistema radical de Eichhornia constituye un "fondo flotante" que desempeña un papel preponderante en la purificación de las aguas para el metano y, al mismo tiempo, en la producción de los embalses tropicales.

Las Figs. 1, 2, y 3 muestran la morfología de las bacterias presentes en las raíces de Eichhornia, en los tres embalses investigados, y en ellas puede apreciarse la gran variabilidad y riqueza de las mismas. En el Embalse Jimaguayú se presentan en mayor cantidad especies del género Caulobacter (Fig. 1B), así como formas filamentosas que se caracterizan por las sinuosidades en las células (Fig. 1C). Estas formas bacterianas se encuentran también en los embalses de las zonas templadas, pero las especies todavía no han podido ser identificadas, (Laptiva y Kuznetsov, 1979). En las raíces de las plantas de este embalse se encuentra también la ferrobacteria Metallogenium (Fig. 1D).

En el Embalse La Yaya también dominan las especies del género Caulobacter (Figs. 2A, B, C). En la Fig. 2A puede observarse un alga diatomea y próxima a ella una especie de Caulobacter. En la Fig. 2B se ve un conjunto de bacterias del mismo género, dos de las cuales se encuentran en división. En la Fig. 2C pueden verse tres células de Caulobacter y un alga dorada.

Es interesante que las formas más raras se encontraron en el Embalse Mañana de Santa Ana. En la Fig. 2D se observa una especie del género Bdellovibrio (bacteria parásita). La Fig. 3B corresponde a una forma poco usual, con una curvatura característica en su porción terminal, que se encuentra muy raras veces en los embalses de la U.R.S.S. En la Fig. 3A, C, D se observan formas típicas del género Asticocaulis, cuyo pedúnculo se encuentra desplazado hacia un extremo con relación al centro de la célula.

Los resultados obtenidos demuestran que en las raíces de Eichhornia se halla una microflora muy abundante y variada, capacitada para llevar a cabo procesos oxidativos diversos, y representa así un nicho ecológico de importancia para la microflora, aunque muy poco estudiado hasta el momento.

RECONOCIMIENTO

Agradecemos a la Dirección del Centro Nacional de Investigaciones Científicas las facilidades brindadas para el trabajo con el microscopio electrónico de esa Institución.

REFERENCIAS

- ALLEN, H. C. (1971): Primary productivity chemoorganotrophic and nutritional interactions of epiphytic bacteria and macrophytes in the littoral of a lake. Ecol. Monogr. 41:97-127.
- CENTER, T. D., y SPENCER, N. R. (1981): The phenology and growth of water hyacinth (Eichhornia crassipes) in a eutrophic North Central Florida, U.S.A., lake. Aquat. Bot. 10(1):1-32.
- DORTICÓS, P. L., ARELLANO, M., SUÁREZ, E., IZQUIERDO, C. M., FONTOVA, M., GÓNGORA, J., et al. (1982): El desarrollo de la hidroeconomía en la República de Cuba. Unidad Poligráfica del Ministerio de la Construcción, La Habana, 33 pp.
- HOSSELL, J. C. (1977): The ecology of periphytic bacteria associated with three freshwater vascular plants. Ph. Dr. Thesis, University of Reading, 125 pp.
- HOSSELL, J. C., y BAKER, J. H. (1979a): Estimation of the growth rates of epiphytic bacteria in Lemma minor in a river. Freshwater Biol. 9(4):319-328.
- (1979b): A note on the enumeration of epiphytic bacteria by microscopic methods with particular reference to two freshwater plants. J. Appl. Bact., 46:128-132.
- ISWARAN, V. A. (1973): Azotobacter chroococcum in phyllosphere of water hyacinth (Eichhornia crassipes). Plant Soil, 39(2): 461-463.
- KRASHENNIKOVA, S. A. (1959): Sobre la distribución de las bacterias oxidadoras de metano en el Embalse de Ribinski (en ruso). Bol. Inf. Inst. Biol. Aguas Interiores URSS., 3:9-13.
- KUZNETSOV, S. I. (1952): El papel de los microorganismos en el ciclo de la materia en los embalses (en ruso). Imprenta de la Academia de Ciencias de la U.R.S.S., Moscú, 300 pp.
- LAPTIVA, N., y KUZNETSOV, S. I. (1979): La microflora autóctona de los acuatorios de agua dulce. En Procesos microbiológicos y químicos de descomposición de materia orgánica (en ruso). Imp. Nauka, L., pp. 75-94.
- PUBILLONES, M. A., y PÉREZ-EIRIZ, M. (en prensa): La liberación y oxidación de biogás en el Embalse de Sierra del Rosario, en Cuba. Rev. Voluntad Hidráulica.

PURCHASE, B. S. (1977): Nitrogen fixation associated with Eichhornia crassipes. Plant Soil, 46(1):283-286.

ROMANENKO, V. I., PÉREZ-EIRIZ, M., y PUBILLONES, M. A. (1982): El método de contacto para preparar material de la microflora periférica para el microscopio electrónico (en ruso). Bol. Inf. Inst. Biol. Aguas Interiores URSS., 5:69-74.

SHMANEV, S. V., y KUZNETSOV, S. I. (1976): Elaboración de preparaciones para el microscopio electrónico (en ruso). Bol. Inf. Inst. Biol. Aguas Interiores URSS, 31:72-75.

TRIVEDY, R. K., SHAMA, K. P., COLL, P. K., y GOPAL, B. (1978): Some ecological observations on floating islands. Hidrobiologia, 60(2):187-191.

ABSTRACT. The potential intensity of methane oxidation process by the microbial biocenosis of Eichhornia crassipes root system was investigated in three Cuban dams. Values obtained ranged 0,38-6,89 mg O₂/1/day for one root, and this rate was 3-5 times higher than the rate of the same process in free water. Electron microscope photographs of the bacteria occurring in the root system of this plant are presented.

TABLA 1. Características hidrológicas más importantes de los embalses donde se colectaron las plantas de Eichhornia crassipes (datos de Dorticós et al., 1982).

Embalse (provincia)	Área de cuenca (km ²)	Volumen total (10 ⁶ m ³)	Escurrimiento medio (10 ⁶ m ³)	Entrega garantizada (10 ⁶ m ³)	Altura maxima (m)	Año de cons- truido	Uso
Mañana de Santa Ana (Camaguey)	65,0	38,1	38,1	26,2	2,5	1967	Regadío
Jimaguayú (Camaguey)	592,0	200,0	226,0	160,0	22,0	1977	Regadío
La Yaya (Guantá- namo)	555,0	160,0	183,0	147,5	47,2	1977	Regadío

TABLA 2. Valores promedios obtenidos para la intensidad potencial de oxidación de metano en el agua y en la rizosfera de Eichhornia crassipes.

Embalse	Utilización de oxígeno (mg/día)					
	En 1 l de agua sin raíces		En 1 l de agua en la que se lavó una raíz		En el sistema radical de una planta completa	
Mañana de Santa Ana	0,10	0,03	0,38	0,09	2,58	0,73
Jimaguayú						
Plantas en agua abierta	0,38	0,12	0,96	0,31	6,72	2,41
Plantas del litoral	1,33	0,45	6,89	2,25	34,40	10,62
La Yaya	2,04	0,58	6,10	2,00	30,50	10,05

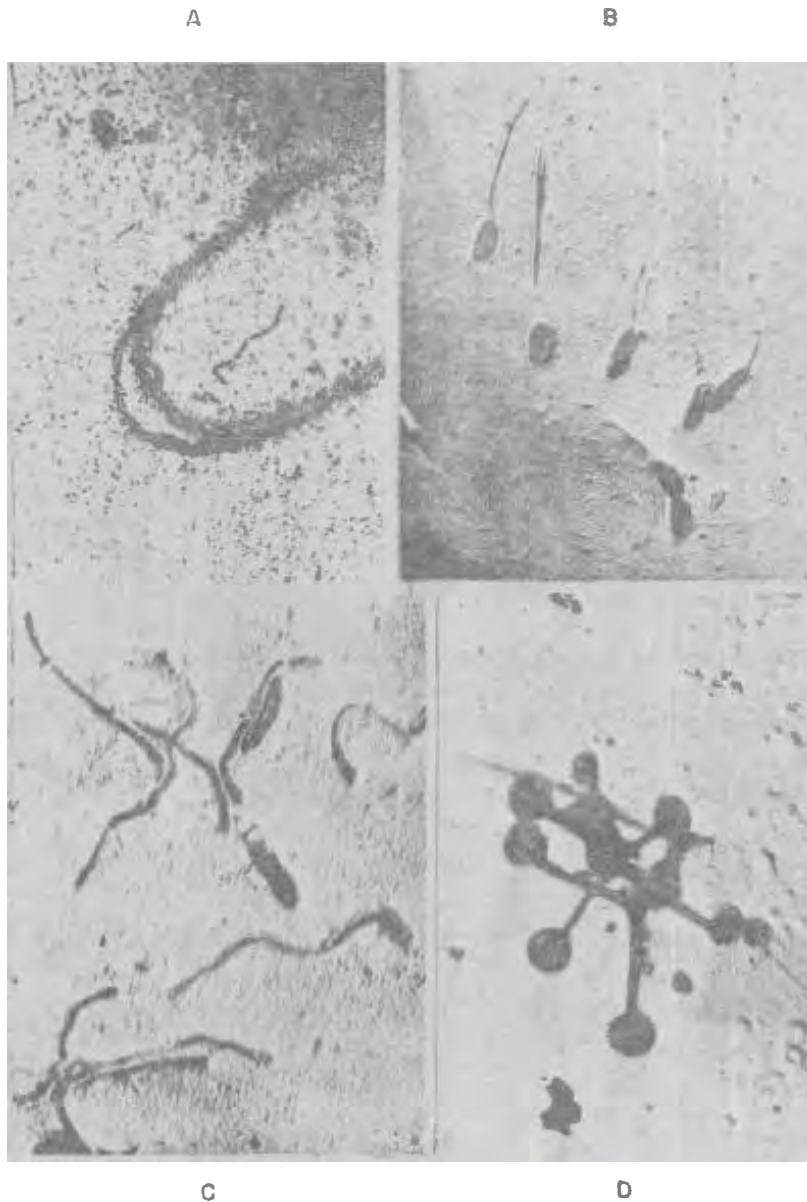


FIG. 1. A, Bacterias epífitas de una raíz fina de Eichhornia crassipes, 10 x (microscopio Zetopan con contraste de interferencia); B, C, D, morfología de las bacterias asociadas al sistema radical de Eichhornia crassipes en el Embalse Jimaguayú, 4 400 x. Explicaciones en el texto.

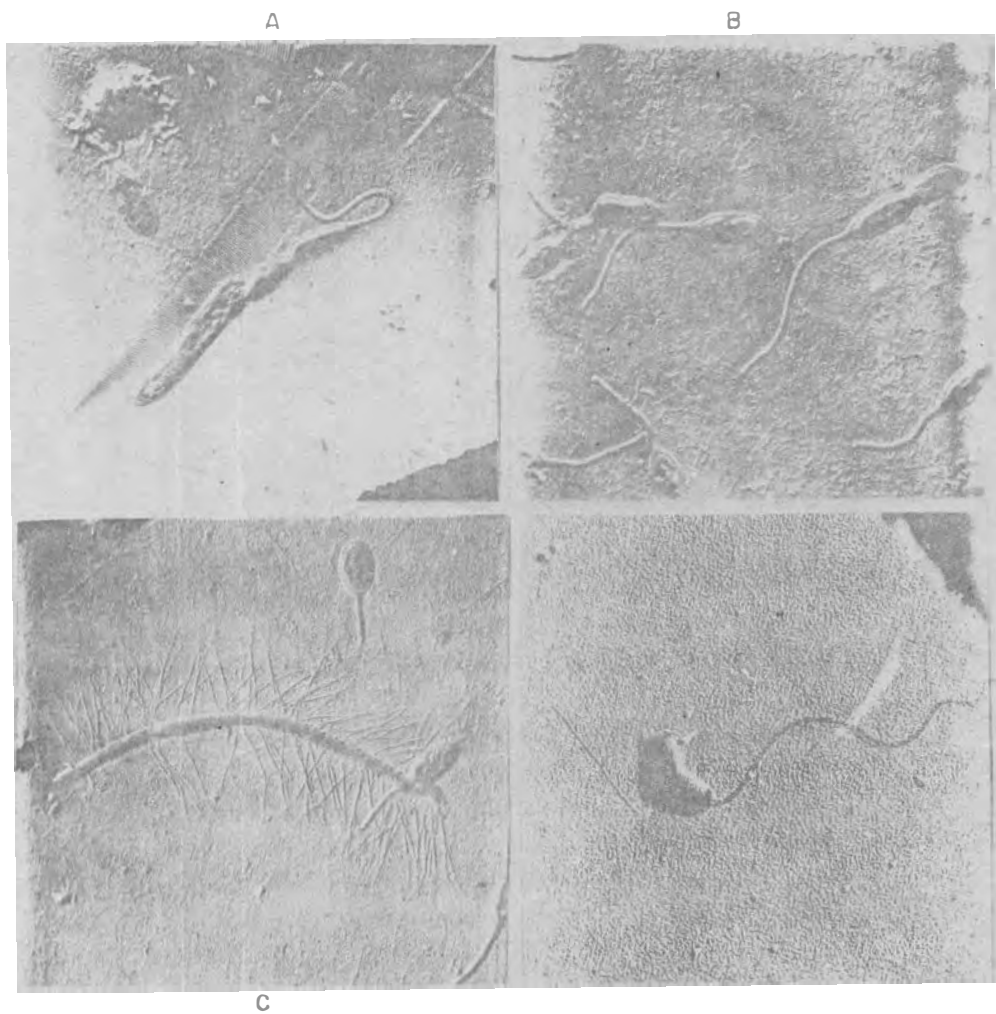


FIG. 2. Morfología de las bacterias asociadas al sistema radical de Eichhornia crassipes en los embalses La Yaya (A, B, C) y Mañana de Santa Ana (D). A, 25 000 x; B, 35 000 x; C, 39 000 x; D, 10 000 x. Explicaciones en el texto.

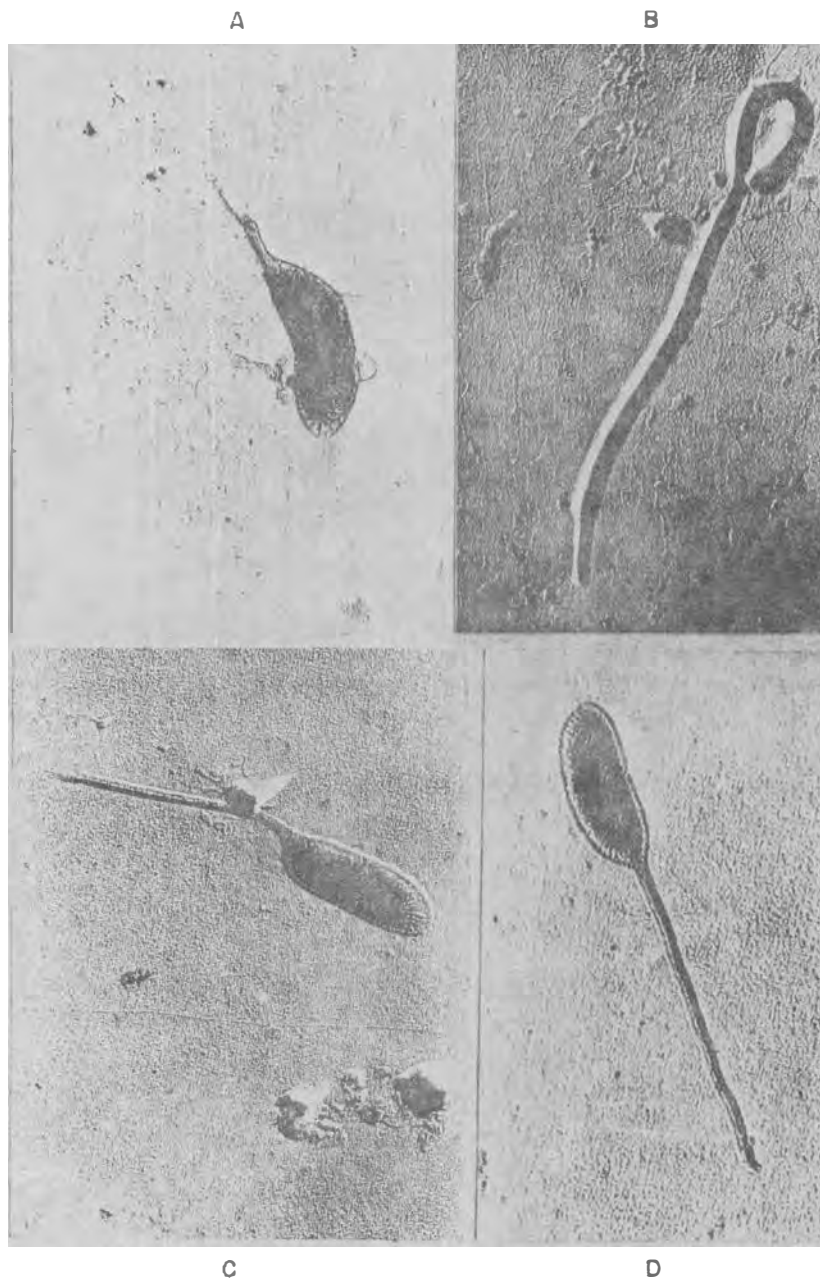


FIG. 3. Morfología de las bacterias asociadas al sistema radical de Eichhornia crassipes en el Embalse Mañana de Santa Ana. A, B, D, 10 000 x; C, 4 400 x. Explicaciones en el texto.