

#### CUARTA PARTE

## **ACTIVIDAD MICROBIANA: PRODUCTIVIDAD PRIMARIA EN HABITATS ACUATICOS**

---

LA CONVERSION DE ENERGIA radiante a energía química atrapada en los enlaces químicos de moléculas orgánicas es la esencia de la productividad primaria generada por fototrofos. Se puede definir la productividad primaria como la cantidad de carbono inorgánico (C) convertido a materia orgánica por organismos autotróficos (ej. gramos de carbono) o como la cantidad de energía transformada por los productorios primarios para producir materia orgánica nueva (ej. kilocalorías). En ambos casos los valores de productividad se calculan para un área o volumen determinado, por un intervalo de tiempo determinado. En el primer caso podemos expresar la productividad primaria en términos de gramos de carbono fijado/m<sup>2</sup>/año. En el segundo caso una expresión apropiada sería kilocalorías/m<sup>2</sup>/año. Es importante reconocer la diferencia que existe entre los términos **productividad primaria** y **cosecha en pie** ("standing crop"). Este último alude exclusivamente a la biomasa (gramos de materia orgánica seca) contenida en una comunidad o grupo de seres vivientes en un momento dado. La biomasa puede ser convertida a gramos de carbono multiplicando por un factor de conversión apropiado (ver un ejemplo en la unidad **Biomasa Fototrofos**). Como veremos a continuación, en nuestro planeta existen varios mecanismos para llevar a cabo la reducción de CO<sub>2</sub> a materia orgánica.

## FIJACION AUTOTROFICA

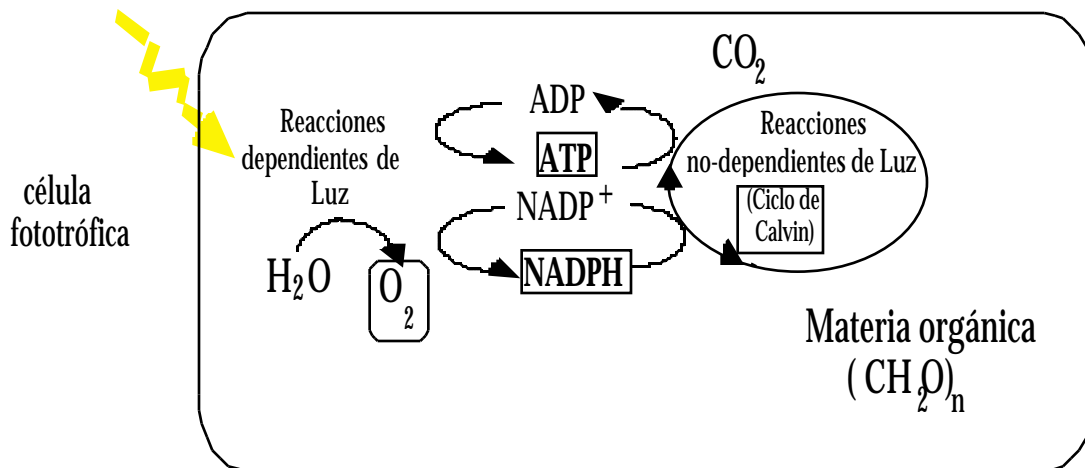
### Fototrofos: fotosíntesis oxigénica

La energía y el poder reductor (ej. electrones) necesarios para la **fijación (reducción) autótrófica** de  $\text{CO}_2$  provienen esencialmente de la energía radiante y de la fotólisis del agua respectivamente. Así, la fotosíntesis oxigénica resulta ser el principal mecanismo biológico para la reducción de  $\text{CO}_2$  en nuestro planeta. Podemos resumir dicho proceso en la siguiente ecuación:



El proceso descrito en la ecuación anterior procede realmente en dos etapas. Una de dichas etapas es mediada por **reacciones dependientes** de luz mientras que la otra es dirigida por **reacciones no-dependientes** de luz (también conocidas como reacciones de oscuridad). Las reacciones dependientes de luz son las que permiten la conversión de energía radiante a energía química (ej. ATP) y en adición aportan los electrones (en forma del coenzimo reducido NADPH), para la reducción de  $\text{CO}_2$  a materia orgánica. Estas reacciones se conocen como reacciones de fotofosforilación. El donante de los electrones en estas reacciones es el agua, liberándose oxígeno como un producto de dichas reacciones. Por otro lado, las reacciones no-dependientes de luz son las que promueven la reducción de  $\text{CO}_2$  a materia orgánica a expensas del ATP y el NADPH generados en las reacciones dependientes de luz (Figura 1). Existen varios trayectos metabólicos para lograr la reducción biológica del bióxido de carbono, no obstante, el principal de estos trayectos en organismos fototróficos es el llamado Ciclo de Calvin. La figura 1 resume ambas etapas del proceso de fotosíntesis oxigénica.

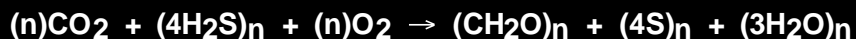
Figura 1: Resumen del proceso de fotosíntesis oxigénica.



### Quimiolitotrofos:

Hoy día reconocemos que en adición a la fotosíntesis oxigénica los procesos de **fotosíntesis anoxigénica** y de **quimiolitotrofia** que llevan a cabo algunos microorganismos procariontes, redundan en aportes significativos a la productividad primaria en algunos escenarios ambientales. De hecho, los productores primarios en comunidades de invertebrados marinos desarrolladas en la vecindad de las llamadas fumarolas o respiraderos hidrotermales ("hydrothermal vents"), se han identificado como bacterias quimiolitotrofas (Brock et al., 1994, Nybakken, 1993). En dichos ambientes no hay penetración de energía radiante (luz solar) que pueda sostener la actividad metabólica de fototrofos, ni hay entrada de fuentes exógenas de materia orgánica, por lo que se ha concluido que el sostenimiento de dichas comunidades descansa únicamente en la reducción de CO<sub>2</sub> por bacterias quimiolitotrofas. Los niveles de productividad en estas comunidades asociadas a las fumarolas parecen ser altos, según lo revelan los trabajos de Karl y colaboradores (1984). Estos investigadores midieron niveles de productividad de **19 mg C/L/h** en aguas cercanas a una ventana hidrotermal.

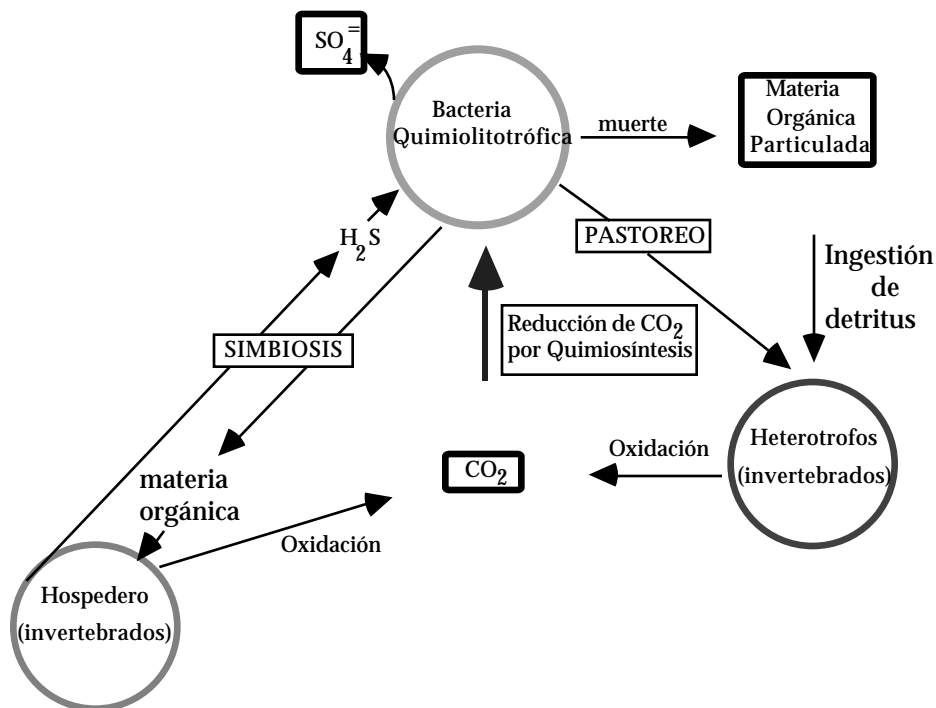
La materia orgánica generada por las bacterias quimiolitotrofas se mueve a través de una cadena alimenticia que permite el desarrollo de una variada fauna de invertebrados marinos. Se han descrito un total de 16 nuevas familias de invertebrados marinos endémicos de las fumarolas y aún quedan especies por describir (Grassle, 1985). Los consumidores primarios adquieren el carbono fijado mediante pastoreo de las bacterias quimiolitotrofas, ingestión de bacterias muertas que pasan a formar materia orgánica particulada (detritus) o mediante relaciones simbióticas (Figura 2). En el caso particular del gusano plumulado *Riftia pachyptila*, este deriva la materia orgánica que necesita para vivir de un endosimbionte bacteriano. Dicha bacteria es un quimiolitotro que obtiene la energía y los electrones necesarios para la reducción del CO<sub>2</sub> a partir de la oxidación del H<sub>2</sub>S (Childress et al., 1987). La siguiente reacción química resume el proceso de **quimiosíntesis** que llevan a cabo este grupo de bacterias en las fumarolas o respiraderos hidrotermales:



En adición a las bacterias quimiolitotróficas que oxidan azufre, existen en la naturaleza otras bacterias quimioautotróficas que generan electrones y ATP para la reducción de CO<sub>2</sub> a partir de la oxidación de hidrógeno gaseoso (H<sub>2</sub>), hierro (Fe<sup>++</sup>), amoníaco (NH<sub>3</sub>) y nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). Estas bacterias son también en esencia productores primarios. De igual forma las bacterias metanogénicas que crecen a expensas de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> y las bacterias homoacetogénicas son capaces de funcionar como autotrofos. La mayoría de los quimiolitotrofos autotrofos y de las bacterias púrpuras fotosintéticas reducen el CO<sub>2</sub> asimilado a través del ciclo de Calvin. No obstante, en las bacterias verdes sulfuradas la fijación de CO<sub>2</sub> se lleva a cabo a través del **Ciclo Reverso del Acido Tricarboxílico**, mientras que las bacterias verdes no sulfuradas emplean el **Trayecto de**

**Hidroxypropionato.** Por otro lado las bacterias metanogénicas, las reductoras de sulfato y las homoacetogénicas utilizan el **Trayecto Acetyl-CoA** para reducir  $\text{CO}_2$  a materia orgánica (Brock et al., 1994). Es difícil de establecer la contribución individual de cada uno de estos microorganismos a la productividad primaria en ambientes naturales, dado que muchas veces compiten unos con otros por el mismo donante de electrones (ej.  $\text{H}_2$ ).

**Figura 2: Relaciones tróficas entre bacterias quimiolitotróficas e invertebrados marinos en fumarolas.**



### Fototofos: fotosíntesis anoxigénica:

La fotosíntesis anoxigénica también representa otro proceso de producción primaria exclusivo de procariontes. En este proceso se substituye el agua como donante de electrones por compuestos inorgánicos sulfurados reducidos (sulfuro de hidrógeno, tiosulfato o azufre elemental), hidrógeno gaseoso ( $\text{H}_2$ ), hierro ( $\text{Fe}^{++}$ ) o por un compuesto orgánico. En adición se emplea un solo fotosistema para las reacciones de fotofosforilación cíclica y no-cíclica. Los pigmentos que permiten la captura y transformación de la energía radiante a energía química se conocen como bacterioclorofilas. Estos pigmentos presentan substituyentes en varias posiciones del anillo de porfirina que los llevan a diferenciarse de las moléculas de clorofila que encontramos en los fototofos oxigénicos. Dichas modificaciones se traducen en

cambios significativos en el espectro de absorción (Brock et al., 1994). La mayoría de las bacterias fototrofas anoxigénicas pertenecen al grupo de las bacterias púrpuras y las bacterias verdes. Estas bacterias sólo pueden fotosintetizar bajo condiciones anaeróbicas, dado que el oxígeno (O<sub>2</sub>) reprime la síntesis de sus pigmentos fotosintéticos. Podemos encontrar estas bacterias usualmente en estratas profundas de lagos estratificados. Existe otro grupo de fototrofos anoxigénicos que necesitan de oxígeno para vivir, aún cuando no lo producen. Estos fototrofos procariotas de origen marino han sido ubicados mayormente en el género *Erythrobacter*, aunque un número reducido de especímenes ha sido ubicado dentro del género *Pseudomonas* (Brock et al., 1994).

La contribución de la fotosíntesis anoxigénica a la productividad primaria de algunos cuerpos acuáticos es significativa. En el caso del Mar Negro, el cuerpo de aguas anóxicas saladas más grande del mundo, dicha contribución pudiera ser actualmente superior a la contribución de la fotosíntesis oxigénica, según lo sugieren datos de la abundancia, composición y distribución de pigmentos en dicho cuerpo de agua (Repeta et al. 1989). La contribución de bacterias fototróficas anoxigénicas a la productividad primaria anual en los lagos: "Solar Lake" localizado en el Sinaí y el "Fatyeteville Green Lake" en Nueva York, han sido estimadas en 91% y 83% respectivamente (Cohen et al., 1977; Culver y Brunskill, 1969). Por otro lado, estudios realizados por Parkin y Brock (1980) en seis lagos de Wisconsin revelan que la contribución de fototrofos anoxigénicos a la productividad primaria diaria total varió entre 0.26% y 6.3%. Estos investigadores concluyeron que la variabilidad en la contribución de los fototrofos anoxigénicos a la productividad primaria esta determinada mayormente por las diferencias en la intensidad de la energía radiante y en menor grado por las concentraciones de sulfuros en la columna de agua. La siguiente reacción química resume el proceso de **fotosíntesis anoxigénica**.



Es conveniente señalar que aún cuando los productores primarios de mayor abundancia y biomasa en nuestro planeta son los fototrofos oxigénicos, algunos de ellos son capaces de llevar a cabo fotosíntesis anoxigénica. Algunas algas y cianobacterias (ej. *Oscillatoria sp.*) son capaces de utilizar H<sub>2</sub> ó H<sub>2</sub>S respectivamente, para reducir CO<sub>2</sub>. Esta variación se produce cuando se generan condiciones anóxicas en el ambiente y se encuentran disponibles H<sub>2</sub> ó H<sub>2</sub>S. En este patrón metabólico anoxigénico se emplea únicamente el fotosistema-I. Ignorar este fenómeno nos puede llevar a subestimar la productividad primaria en ambientes anóxicos, cuando utilizamos la producción de O<sub>2</sub> como indicador de la productividad primaria.

### Productividad Primaria: indicador de estatus nutricional:

Los estimados de productividad primaria pueden ser utilizados como indicadores del estatus nutricional de cuerpos de agua naturales. La tabla 1 presenta una clasificación de lagos en base a su productividad primaria. Esta clasificación es válida para lagos autotróficos, aquellos donde la materia orgánica producida proviene mayormente de la actividad fotosintética y no de materia orgánica importada.

**Tabla 1: Estatus nutricional y productividad primaria de lagos autotróficos.**

ESTATUS NUTRICIONAL	PRODUCTIVIDAD (g C/m <sup>2</sup> /año)
oligotrófico	7 - 25
mesotrófico	25 - 75
eutrófico	75 - 250
contaminado	250 - 700

Es necesario tomar en consideración algunas excepciones a esta clasificación, particularmente en áreas desérticas, donde la radiación solar es intensa, la temporada de crecimiento o cosecha es larga y los nutrientes están concentrados. A menudo en estas áreas se registran valores de productividad que sobrepasan los límites aquí señalados para aguas contaminadas (ej. salitrales, lagos de soda).

### Fijación heterotrófica:

La reducción de bióxido de carbono a materia orgánica en nuestro planeta es llevada a cabo mayormente por organismos autotróficos y en grado ínfimo, aunque esencial, por organismos heterotrofos. La **asimilación heterotrófica** de CO<sub>2</sub> es un proceso integral de la biosíntesis de ácidos grasos, la gluconeogénesis, la oxidación de ácidos grasos de cadena impar y de la regeneración de los intermediarios del ciclo de Krebs [reacciones anapleróticas] (Voet y Voet, 1990; Mathews y van Holde, 1995). En dichos procesos intervienen carboxilasas que tienen como grupo prostético a la **biotina** (ej. carboxilasa de piruvato, carboxilasa de propionil-CoA y carboxilasa de acetil-CoA). Dicha vitamina es un coenzimo organosulfurado que actúa como un grupo portador de CO<sub>2</sub>. Aún cuando por su magnitud el proceso de asimilación heterotrófica es descartable, cuando se compara con los niveles de fijación autotrófica de CO<sub>2</sub> en una comunidad, es importante reconocer que los organismos heterotrofos requieren de materia orgánica y de CO<sub>2</sub> como fuentes de carbono. La magnitud de este proceso metabólico puede ser estimado cuando medimos la productividad primaria a través de cambios en pH, cambios en concentración de CO<sub>2</sub> o midiendo la tasa de incorporación de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>.



## METODOLOGIA

Se han desarrollado diversos métodos para estimar la productividad primaria en comunidades acuáticas. Reconociendo la fotosíntesis oxigénica como el principal mecanismo para la reducción de bióxido de carbono en nuestro planeta, podemos describir la mayoría de los métodos disponibles a partir de la siguiente reacción:



El progreso de una reacción química puede ser medido a base de:

- cambios en la concentración de los reactantes
- cambios en la concentración de los productos

Analizando la reacción anterior podemos entonces deducir que la actividad fotosintética puede ser determinada midiendo cambios en la razón de:

- producción de oxígeno
- producción de fotosintetatos (ej. materia orgánica)
- consumo de bióxido de carbono
- consumo de agua

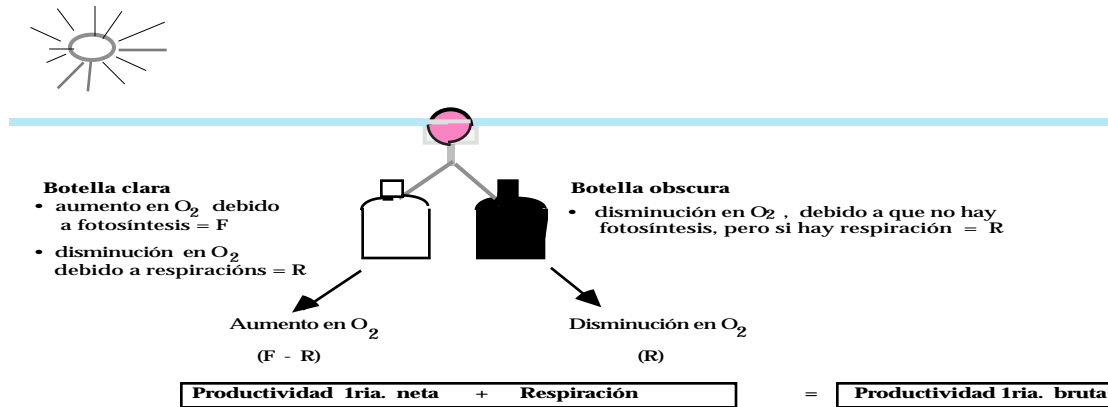
**En esta unidad discutiremos únicamente el método de oxígeno disuelto utilizando el sistema de botellas claras y oscuras.** Puede obtener información detallada sobre otros métodos empleados para determinar productividad primaria en las siguientes referencias (APHA, 1994; Dawes, 1986; Platt & Sathyendranath, 1988; Vollenweider, 1974; Odum, 1971; Steeman Nielsen, 1959; Wetzel & Likens, 1979).

### CAMBIOS EN CONCENTRACION DE OXIGENO

#### Consideraciones Generales:

A finales de la década del 1920, Gaarder y Gran diseñaron un método para medir productividad primaria basado en la determinación de cambios en la concentración de oxígeno disuelto en muestras de agua naturales secuestradas en botellas de cristal (Gaarder y Gran, 1927; McConnauey, 1978; Webber y Thurman, 1991). Dicho método conlleva la utilización de un par de botellas, una clara y una oscura, por cada estrata en la columna de agua que se desea analizar. Las botellas se suspenden en la columna de agua a diferentes profundidades utilizando una cuerda. Luego de un periodo de incubación determinado, las botellas se sacan a la superficie y se mide la concentración de oxígeno en cada botella, utilizando el método iodométrico (Winkler) o una sonda de oxígeno (ej. sensor polarográfico).

**Figura 3: Sistema de botellas claras y oscuras: Método de Gran.**



El método está basado en la premisa de que la cantidad de oxígeno producida durante fotosíntesis guarda proporción directa con la cantidad de fotosintetatos producidos (ej. carbohidratos), dado que se produce una molécula de oxígeno por cada átomo de carbono fijado. En consecuencia, en las botellas claras, (**expuestas a la luz**) se lleva a cabo el proceso de fotosíntesis, generándose una cantidad de oxígeno proporcional a la cantidad de materia orgánica fijada. Al mismo tiempo en dichas botellas, los fototrofos consumen una porción del oxígeno producido para llevar a cabo el proceso de respiración celular (ej. **respiración autotrófica**). La cantidad de oxígeno residual es proporcional a la concentración de fotosintetatos remanentes, la cual constituye la **producción primaria neta**. Por otro lado, en las botellas oscuras (**excluyen la luz**) los fototrofos consumen oxígeno, pero no lo producen. Se puede calcular la tasa respiratoria de los fototrofos restando el valor de oxígeno disuelto registrado en la botella oscura del valor de oxígeno disuelto inicial (Figura 3). Así, el concepto de productividad neta está basado en la asunción de que la respiración registrada en las botellas oscuras es causada por fototrofos que están metabolizando sus propios fotosintetatos y tejidos (Cole, 1983). El método también asume que la tasa respiratoria autotrófica es igual en ambas botellas. Dicha asunción fue respaldada inicialmente por los trabajos de Brown (1953). Este midió la incorporación de un isótopo pesado de oxígeno en presencia de luz y en la oscuridad, encontrando que no había diferencia en la razón de incorporación del isótopo en luz y oscuridad durante períodos de incubación cortos. No obstante, más adelante veremos que dicha premisa no es correcta para todos los organismos fototróficos.

Cuando queremos estimar la productividad primaria a lo largo de un perfil de profundidad se colocan botellas claras y oscuras a diferentes profundidades, tomando en consideración la profundidad de la zona fótica y el patrón de extinción de la luz a lo largo del perfil de profundidad. Este tipo de análisis nos permite determinar hasta que profundidad la intensidad de luz es suficiente para sostener la actividad fotosintética. También podemos determinar la profundidad de compensación de oxígeno (Figura 4).



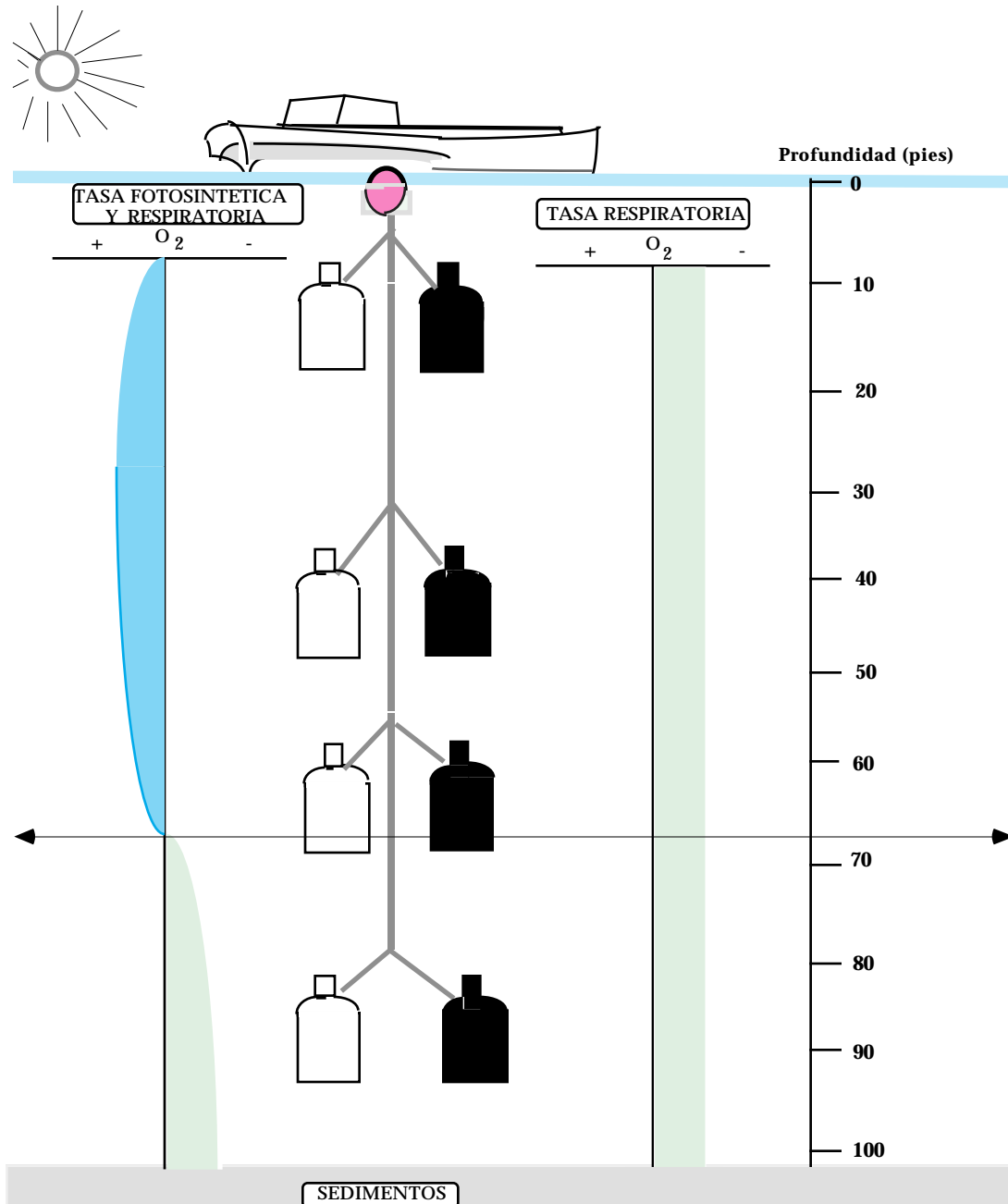
Esta última representa la profundidad a la cual la producción de oxígeno por fotosíntesis es igual al consumo de oxígeno por respiración autotrófica.

**Protocolo experimental: sistema botellas clara-oscuro, Método Winkler**

**Materiales y equipo:**

- Botellas claras y oscuras de 300 mL para medir oxígeno disuelto, con tapón de vidrio esmerilado. Las botellas deben ser de vidrio de alta calidad, preferiblemente de cuarzo (ej. Pyrex), ya que estas no absorben la radiación de onda corta (ej. luz ultravioleta). Limpie las botellas y tapones cuidadosamente con ácido (HCl) diluido y enjuague en repetidas ocasiones con agua destilada, para eliminar residuos de yodo, ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y nutrientes.
- Botella de muestreo opaca, no-metálica (ej. van Dorn) [exposición de las muestras de agua a metales iónicos, aún por breves períodos de tiempo, afecta la actividad fotosintética durante el periodo de incubación], o una bomba de succión.

**Figura 4: Determinación de productividad primaria a lo largo de un perfil de profundidad.**



Modificada de Webber y Thurman (1991).

- Cuerda y boya de flotación para suspender botellas en la columna de agua.
- Cinta métrica para calibrar cuerda y marcar la profundidad a la que se localizará cada trio de botellas (2 botellas claras y una botella oscura).

- Cronómetro para medir tiempo de incubación de las botellas.
- Reactivos y materiales de prueba lodométrica para O<sub>2</sub> disuelto (Winkler) [ver unidad de **Oxígeno Disuelto** en este manual].
- Envase para proteger muestras de la exposición a la luz solar previo al período de incubación.

### Procedimiento:

1. Tome muestras representativas de cada estrata del cuerpo de agua y transfíralas a las botellas de 300 ml lo más rápidamente posible. **[La profundidad a la que tomará cada muestra dependerá del gradiente y profundidad de la zona eufótica en el área de muestreo. El número de estratas a estudiar a lo largo del perfil de profundidad dependerá del estatus nutricional del cuerpo de agua. En cuerpos de agua de productividad baja o moderada se recomienda tomar muestras a intervalos de 1 metro, si el tiempo y los recursos técnicos y humanos lo permiten. En cuerpos de agua llanos y de alta productividad se recomienda la toma de muestras a intervalos de 0.5 metros (Wetzel & Likens, 1979)].** Utilice un fotómetro sumergible o un disco secchi para determinar la extensión de la zona fótica. Mida la profundidad total del cuerpo de agua y proceda a determinar el número de muestras a tomar y la profundidad a las que tomará las mismas. Comience con las muestras de la superficie siguiendo entonces el gradiente de profundidad. Utilice cinco (5) botellas de muestreo de 300 ml por cada estrata del cuerpo de agua a ser analizada: **cuatro (4) botellas claras y una (1) botella oscura**. En el caso de que utilice una botella de muestreo (ej. Van Dorn) o una bomba de succión para tomar sus muestras de agua, coloque la línea o conducto de transferencia de la muestra en el fondo de sus botellas de oxígeno disuelto y proceda a llenarlas hasta que se desborden. Permita que el agua se desborde, hasta que haya vertido por lo menos dos veces el volumen completo de cada botella de oxígeno disuelto. Evite la formación de burbujas de aire durante la transferencia manteniendo la línea de transferencia en el fondo de cada botella. Tape rápidamente cada botella evitando atrapar burbujas de aire en el cuello de la botella. Cubra el cuello de cada botella oscura con papel de aluminio para asegurarse que no entra luz por el cuello de la botella. Evite que las botellas que va llenando se expongan a luz solar colocándolas en el interior de un envase o caja a prueba de luz.
2. Utilice dos (2) de las botellas claras para medir el oxígeno disuelto inicial de cada estrata. Fije inmediatamente estas muestras y proceda a medir la concentración de oxígeno inicial de cada estrata.

3. Por cada estrata a ser estudiada, ate las otras dos botellas claras y la botella oscura al cable que utiliza para suspender las botellas en la columna de agua. Utilice un cable que ha calibrado previamente con una cinta métrica. Guarde las botellas ya atadas en la caja a prueba de luz, en lo que completa la preparación de todas las muestras.
4. Sumerja cada trío de botellas a la profundidad correspondiente (aquella a la cuál tomó cada muestra de agua). Evite que la boya de flotación interfiera con la exposición de las botellas claras a la radiación solar que penetra a través de la columna de agua.
5. Incube todas las botellas por un mismo lapso de tiempo. **[El período de incubación de las botellas dependerá del estatus nutricional del cuerpo de agua y de la intensidad de la actividad fotosintética]**. El tiempo cero de incubación se anotará tan pronto como la mitad de las botellas hallan sido sumerjidas.
6. Retire las botellas al cumplirse el tiempo de incubación y proceda a determinar inmediatamente el oxígeno disuelto en cada una de ellas utilizando el Método Winkler descrito en la unidad de **Gases** de este manual.

#### Datos y Cálculos:

##### 1. Para cada estrata anote los valores obtenidos de :

- concentración de O<sub>2</sub> disuelto inicial : \_\_\_\_\_
- concentración de O<sub>2</sub> disuelto en botella clara : \_\_\_\_\_
- concentración de O<sub>2</sub> disuelto en botella oscura : \_\_\_\_\_
- tiempo de incubación de las botellas : \_\_\_\_\_

##### 2. Realice los siguientes cálculos:

- **Fotosíntesis neta** = [O<sub>2</sub> Disuelto (botella clara) - O<sub>2</sub> Disuelto (inicial)]
- **Respiración** = [O<sub>2</sub> Disuelto (inicial) - O<sub>2</sub> Disuelto (botella oscura)]
- **Fotosíntesis bruta** = [Razón Fotosíntesis Neta + Razón Respiración]

La producción es calculada de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} \text{mg de Carbono fijado/m}^3 &= \text{mg O}_2 \text{ liberado/L} \times (12/32) \times 1000 \\ &= \text{mg O}_2 \text{ liberado/L} \times (0.375) \times 1000 \\ &= \text{mg O}_2 \text{ liberado/L} \times (375.0) \end{aligned}$$

El factor 12/32 es utilizado para convertir el oxígeno liberado a carbono fijado, dado que 1 mol de O<sub>2</sub> (32g) es liberado por cada mol de carbono (12g) fijado. El factor de 1000 es utilizado para convertir litros a metros cúbicos. No obstante, algunos investigadores señalan que para fitoplancton, el cociente fotosintético (moles de oxígeno liberado a moles de carbono fijado) no es de 1:1, sino cerca de 1:1.2, dado que una parte del fotosintetato producido es rápidamente convertido a otros compuestos orgánicos (Brower et al., 1990). Esto transforma la ecuación anterior en:

$$\begin{aligned} \text{mg de Carbono fijado/m}^3 &= \text{mg O}_2 \text{ liberado/L} \times (375/1.2) \\ &= \text{mg O}_2 \text{ liberado/L} \times (312.5) \end{aligned}$$

La productividad primaria neta se calcula dividiendo el carbono fijado por el lapso de tiempo durante el cual fueron incubadas las botellas claras y oscuras.

$$\text{Productividad primaria neta} = [\text{Fotosíntesis neta} \times (312.5)] / \text{tiempo de incubación}$$

La productividad primaria neta también puede ser expresada en términos de:

- g materia orgánica seca/m<sup>3</sup>/unidad de tiempo

ó

- kilocalorías/m<sup>3</sup>/unidad de tiempo

Estos valores son interconvertibles asumiendo que un 50% de la materia orgánica seca es carbono y que en promedio 1 gramo de materia orgánica seca equivale a 5 kcal de energía almacenada.

### 3. Ejemplos:

Ejemplo #1: *Determinación de productividad de una estrata*

- concentración de O<sub>2</sub> disuelto inicial : 4.2
- concentración de O<sub>2</sub> disuelto en botella clara : 6.8
- concentración de O<sub>2</sub> disuelto en botella oscura : 1.8
- tiempo de incubación de las botellas : 6 h
  
- **Fotosíntesis neta** = [O<sub>2</sub> Disuelto (botella clara) - O<sub>2</sub> Disuelto (inicial)]  
= [6.8 - 4.2]  
= **2.6 mg O<sub>2</sub>/L/h**
  
- **Respiración** = [O<sub>2</sub> Disuelto (inicial) - O<sub>2</sub> Disuelto (botella oscura)]  
= [4.2 - 1.8]  
= **3.4 mg O<sub>2</sub>/L/h**
  
- **Fotosíntesis bruta** = [Razón Fotosíntesis Neta + Razón Respiración]  
= [2.6 mg O<sub>2</sub>/L/h + 3.4 mg O<sub>2</sub>/L]  
= **6.0 mg O<sub>2</sub>/L/h**
  
- **Productividad primaria neta** = [Fotosíntesis neta x (312.5)]/tiempo  
= [2.6 x 312.5]/6  
**= 135.4 mg de Carbono fijado/m<sup>3</sup>/h**

Ejemplo #2: **Determinación de productividad a lo largo de un perfil de profundidad.**

Profundidad	$\Delta O_2$ (mg/L)		Tiempo de Incubación (h)	Productividad 1 <sup>ra</sup> . Neta (mgC/m <sup>3</sup> /h)	Respiración Autotrófica (mgC/m <sup>3</sup> /h)	Productividad 1 <sup>ra</sup> . Bruta (mgC/m <sup>3</sup> /h)
	Botella Clara	Botella Oscura				
superficie (0.2m)	+3	-2	4	234.4	156.25	390.65
columna (1.2 m)	+2	-2	4	156.2	156.25	312.50
columna (2.2 m)	+0.5	-2	4	39.1	156.25	195.30
fondo (3.4 m)	0	-2	4	0	156.25	156.25
<b>Metabolismo Total de la Columna de Agua</b>	--	--	--	<b>429.7</b>	<b>625.0</b>	<b>1054.70</b>

#### Asunciones, fuentes de error y modificaciones del método:

1. La determinación de la productividad primaria neta a través de la medición de cambios en la concentración de oxígeno disuelto está basada en la premisa de que la respiración es llevada a cabo únicamente por los fototrofos que están metabolizando sus propios fotosintetatos y tejidos. Se asume, entonces, que la respiración de heterotrofos atrapados en la muestra es descartable. Esto resulta ser un acercamiento idealizado, dado que una parte substancial de la materia orgánica que se produce en las botellas claras durante el periodo de incubación puede ser transferida a los heterotrofos atrapados en las botellas. Esa porción de materia orgánica removida por los herbívoros no la registramos en el análisis de oxígeno disuelto, por consiguiente, nuestro estimado de productividad primaria esta por debajo del valor real. Por ese motivo algunos limnólogos prefieren filtran las muestras de agua a través de redes, antes de llevarlas a las botellas claras y oscuras (Cole, 1983). El propósito de la filtración es remover el zooplancton mayor, para así reducir el pastoreo o consumo de los fototrofos. Otros investigadores prefieren obviar la filtración, ya que dicho proceso puede alterar la densidad y composición de la comunidad de fitoplancton atrapada en las botella de muestreo (Wetzel y Likens, 1979).

2. Otra asunción de este método es que las tasas de respiración son iguales en las botellas claras y oscuras. El desarrollo del fenómeno de fotorespiración en las botellas claras puede llevarnos a subestimar la productividad primaria de un cuerpo de agua. Estudios realizados por Harris y Piccinin (1977) revelan que el fenómeno de **fotorespiración** es uno muy frecuente en el fitoplancton. Este hecho nos lleva a plantear que puede existir una diferencia significativa en la tasa de respiración entre el plancton secuestrado en las botellas claras y el plancton contenido en las botellas oscuras. El proceso de fotorespiración consiste en la oxidación de fotosintetatos en presencia de luz (aunque no directamente asociado a la luz), cuando la concentración de CO<sub>2</sub> se torna limitante. Dicho fenómeno ocurre en fototrofos cuya razón de fotosíntesis disminuye rápidamente al bajar la concentración de CO<sub>2</sub>, hasta llegar a un punto donde la actividad fotosintética es sostenida entonces por el bióxido de carbono derivado de la oxidación aeróbica de fotosintetatos (ej. ácido glucólico) [Villemet et al., 1992]. Es propio señalar que otros fototrofos pueden consumir prácticamente todo el CO<sub>2</sub> del ambiente sin que se produzca el fenómeno de fotorespiración. Dado que la fotorespiración es favorecida por altas intensidades de luz y bajas concentraciones de CO<sub>2</sub>, esperaríamos que dicho fenómeno afecte mayormente a las muestras incubadas en botellas claras localizadas cerca de la superficie del agua (Cole, 1983).

Por otro lado, en la botella oscura los fototrofos llevan a cabo un proceso de respiración autotrófica. Este proceso ocurre básicamente en las mitocondrias, donde se produce la mineralización de una porción de los fotosintetatos almacenados. Se han reportado datos donde la tasa respiratoria en las botellas claras ha sido hasta tres veces mayor a la respiración medida en las botellas oscuras. Estudios con *Hypnea musciformis* un alga roja, revelan que el fenómeno de fotorespiración puede ocasionar una reducción de hasta un 50% en la productividad de dicha alga (Dawes, 1986). Golterman (1971) realizó estudios con inhibidores selectivos del proceso de respiración celular (ej. 2-4 dinitrofenol, DNP) y del proceso de fotosíntesis (ej. diclorofenil-dimetil-urea, DCMU) que lo llevaron a concluir que en sus muestras, el consumo de oxígeno en las botellas claras era generalmente mayor al consumo de oxígeno registrado en las botellas oscuras. Todo esto implica que de ocurrir el fenómeno de fotorespiración en nuestro sistema de botellas claras, podríamos subestimar por mucho la productividad primaria bruta de un cuerpo de agua. Algunos limnólogos han optado por realizar incubaciones de 24 h, para minimizar el margen de error causado por diferencias en las tasas de respiración diurna y nocturna (Cole, 1983). No obstante, esta modificación puede ocasionar otros problemas, como los que se discuten a continuación.

3. Se puede generar un **efecto botella** en las botellas claras y oscuras, cuando el período de incubación de las muestras es prolongado (ej. > 24 - 48 h). Durante períodos largos de incubación se pueden producir cambios significativos en la densidad del plancton secuestrado en las botellas claras. La densidad del plancton



puede aumentar dentro de las botellas claras como consecuencia de una regeneración acelerada de nutrientes por parte de bacterias adheridas a las paredes de las botellas. La densidad de bacterias adheridas en la pared de las botellas aumenta al incrementar la frecuencia con que estas se encuentran con moléculas de sustratos oxidables. El efecto botella puede provocar diferencias significativas en las densidades del plancton dentro y fuera de las botellas claras. Por otro lado, la proliferación de bacterias en las botellas claras y oscuras durante períodos de incubación prolongados conlleva un aumento en la tasa respiratoria, que a su vez nos lleva a subestimar la productividad primaria neta. Bajo el efecto botella observamos que las condiciones imperantes en las botellas se diferencian substancialmente de las que prevalecen en el ambiente natural externo. La magnitud del efecto botella sobre la tasa respiratoria varía con el estatus nutricional del cuerpo de agua, siendo más pronunciado en cuerpos de agua eutróficos. Generalmente se recomiendan ensayos que cubran del amanecer al mediodía o del mediodía al anochecer. Duplicando los resultados obtenemos valores que se aproximan a las tasas de productividad y respiración diurna. No obstante, para reducir el impacto del efecto botella sobre la determinación de productividad neta se recomienda variar el tiempo de incubación de las botellas claras y oscuras de acuerdo con el estatus nutricional del cuerpo de agua estudiado y la intensidad de luz a través de la columna de agua.

- **cuerpos de agua eutróficos:** En cuerpos de agua donde la densidad del plancton es muy alta, el tiempo de incubación debe ser menor a las dos (2) horas para evitar que las muestras se sobresaturen de oxígeno. Cuando esto ocurre podemos observar la producción y acumulación de burbujas de gas dentro de las botellas claras.
- **cuerpos de agua mesotróficos:** Cuando trabajamos con cuerpos de agua con una productividad moderada se pueden emplear tiempos de incubación que oscilen entre 2 y 4 horas.
- **cuerpos de agua oligotróficos:** Cuando la densidad del fitoplancton es baja se necesitan períodos de incubación más prolongados (ej. > 12 h), de tal forma que se generen cambios en la concentración de oxígeno (O<sub>2</sub>) que puedan ser detectables. No obstante, es conveniente recordar que las botellas deben incubarse por el periodo más corto posible, para evitar que se produzcan diferencias significativas en la densidad del plancton dentro y fuera de las botellas claras.

**PROCEDIMIENTO A SEGUIR:****PRODUCTIVIDAD: Sistema de botellas claras y oscuras: método Winkler****PREGUNTAS...**

1. ¿Cuál o cuáles de los métodos mencionados en esta unidad puede(n) ser utilizado(s) para medir la productividad primaria en una comunidad sostenida exclusivamente por autotrofos quimiolitotróficos?
2. Describa otro método que podría utilizarse para medir productividad primaria en una comunidad sostenida exclusivamente por autotrofos quimiolitotróficos.
3. A usted se le encarga diseñar un experimento para detectar la presencia de organismos autotróficos en muestras de suelo del Planeta Marte. El experimento será realizado *in situ*. Describa el método que emplearía para cumplir con dicho objetivo.
4. Si el experimento que diseñó en la pregunta anterior fuera realizado en nuestro planeta utilizando muestras de suelo traídas del planeta Marte ¿qué modificaciones, si alguna, haría a su método?