

DESCRIPCIÓ D'UN MODEL EXPERIMENTAL DE COLUMNA DE WINOGRADSKY. PARÀMETRES FÍSICS I QUÍMICS

I.V. Pibernat, L.J. García-Gil & C.A. Abellà

Institut d'Ecologia Aquàtica. Estudi General de Girona (UAB). Pl. Hospital, 6. 17071 Girona.

RESUM

Es descriu el fonament metodològic d'una columna experimental dissenyada per disposar de condicions constants d'estratificació, semblants a les trobades en alguns sistemes naturals. La columna està formada per un cilindre de vidre Pyrex de 130 cm de longitud per 11 cm de diàmetre mitjà. L'aigua s'escalfa per la part superior i es refrigera per la part inferior, la qual cosa genera l'estratificació tèrmica, la formació artificial d'un epilimnion i un hipolimnion. La columna està equipada amb material per mesurar paràmetres físics i químics de l'aigua. Amb els controls tèrmics aplicats, és possible generar gradients tèrmics i químics estables en 3 hores; la localització dels quals és possible controlar i modificar. Es modela segons les característiques de llacs i estanys homiòtics i meromíctics. L'objectiu de la columna és facilitar l'estudi de les migracions de microorganismes, que en condicions naturals es troben associats a aquests gradients (temperatura, conductivitat i llum), en condicions controlades i comparables a les trobades en medis naturals.

RESUMEN

Se describe el fundamento de una columna experimental diseñada para disponer de condiciones de estratificación constantes, controladas y semejantes a las halladas en algunos sistemas naturales. La columna está formada por un cilindro de vidrio Pyrex de 130 cm de longitud y 11 cm de diámetro medio. El agua en ella contenida se calienta superficialmente y refrigera por su parte inferior generando su estratificación, es decir, la formación de un epilimnion y un hipolimnion artificial. La columna está equipada con sistemas de control para medir parámetros físicos y químicos del agua. Con los controles térmicos aplicados se consigue generar gradientes térmicos y químicos estables en 3 horas, la localización de los cuales se puede modificar a voluntad. El objetivo de esta columna es facilitar el estudio de las migraciones de microorganismos planctónicos, que en condiciones naturales se encuentran asociados a estos gradientes (temperatura, luz y conductividad), bajo condiciones controladas y comparables a las encontradas en medios naturales.

ABSTRACT

The physiological processes which lead to stratification of aquatic microorganisms are complex and difficult to study under natural conditions. In this paper a column for modeling physical and chemical stratification in the laboratory, is described. The column

consists of a cylinder of Pyrex glass of 1,30 m length and 11 cm width, filled with lake water which is cooled at the bottom and heated at the upper part. The differential temperature results in the stratification in the column. As a consequence of these primary gradients, various planktonic microorganisms in the water are distributed unevenly with depth, and, as a result of their biological activities, secondary gradients (pH, redox, oxygen, sulfide, etc.) develop in the same way as in natural waters. The column is equipped with probes for measuring several physical and chemical variables. Stable chemocline and thermocline can be formed in 3 hours. The final purpose of the column is to study vertical movements of planktonic microorganisms as for example sulfur phototrophic bacteria under controlled conditions, and compare with natural populations.

Key words: Experimental column, stratification, thermocline, chemocline.

INTRODUCCIÓ

En condicions naturals, les característiques físico-químiques de la columna d'aigua seleccionen els microorganismes en funció de la seva fisiologia. Aquests paràmetres són l'estratificació, l'espectre i la quantitat d'energia disponible (Abellà i Garcia-Gil, 1988; Abellà, 1980), els quals són de difícil estudi al camp (Baker i Brook, 1971). Les dificultats es deriven del fet que els sistemes naturals estan sotmesos a canvis continuats pel seu propi cicle limnològic. En aquest treball es descriu una metodologia per facilitar aquest tipus d'estudi al laboratori i alhora permetre comparacions amb les condicions de camp.

Anteriorment, s'han descrit altres models de laboratori com per exemple els tancs de dimensions relativament elevades, els quals serveixen per estudiar l'estratificació de microorganismes planctònics (Margalef, 1963; Strickland et al., 1969; Walsby, 1971; Booker et al., 1976). Un altre tipus de model utilitza un bany per estudiar la termocline, des d'un punt de vista qualitatiu. Altres models més senzills es basen en la incubació de mostres dins de botelles que es submergeixen en condicions controlades de llum i temperatura (Spitzer i Wernand, 1981). En aquest treball s'estudia la resposta de la columna en variar les condicions d'estratificació química i física i la comparació d'aquest model amb les condicions de camp trobades a Banyoles.

Winogradsky, a final del segle XIX, va descriure el seu model de columna com a mètode de cultiu enriquit per microorganismes quimiolitòtrofs (Schlegel, 1985). En aquest cultiu enriquit o «beijerenkià», no hi creix cap espècie microbiana; és un enriquiment d'una població amb determinada fisiologia, com bacteris fototròfics del sofre en condicions anaeròbiques i amb suficient llum. Aquesta columna és generalment utilitzada (Brock i Madigan, 1984) per separar bacteris fototròfics del sofre verds i vermells.

MATERIAL I MÈTODES

Preparació de la columna

El treball s'ha realitzat en una columna de vidre Pyrex disposada verticalment, amb 130 cm de longitud total per 10 cm de diàmetre a la part superior i 11,5 cm a la part inferior, amb una capacitat total de 12 L (Fig. 1). La part inferior està constituïda per un con amb dues entrades disposades una al vèrtex inferior i l'altra lateralment. Aquesta part inferior es separa de la resta de la columna per un sedàs amb uns porus de 0,5 cm aproximadament.

L'estratificació s'assoleix escalfant i refredant diferencialment la columna, per la qual cosa es disposa de dos sistemes: La part superior s'escalfa utilitzant un aparell calefactor format per dues resistències elèctriques amb una longitud total de 3 m, connectades en paral·lel a un termòmetre de contacte submergit i a un termoaparell-termòstat. La part inferior es refreda mitjançant un bany amb un termòstat al qual s'aplica una bomba de fred continu. El bany està connectat en circuit tancat a un tub de silicona que envolta la columna per la part inferior i retorna l'aigua al bany. Ambdós sistemes permeten un millor control de la temperatura.

En una primera experiència de control de la conductivitat, es va omplir la part superior de la columna amb aigua de l'estany de Banyoles i la part inferior amb aigua de l'estany i 0,5 g de sulfat càlcic, resultant una quimioclina molt feble. En un segon assaig s'utilitza aigua del brollador de la riera Castellana (Banyoles),

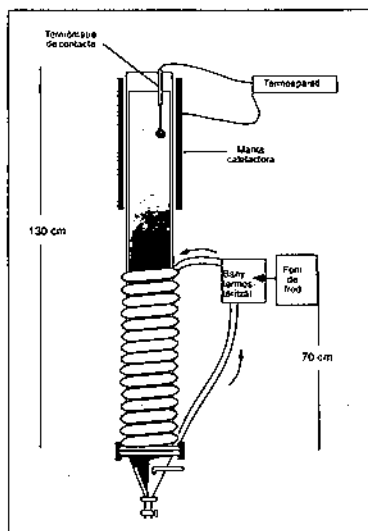


Figura 1. Esquema de la columna de laboratori, la part superior amb el sistema calefactor, controlat pel termoaparell-termòstat i la part inferior amb el sistema de refrigeració.

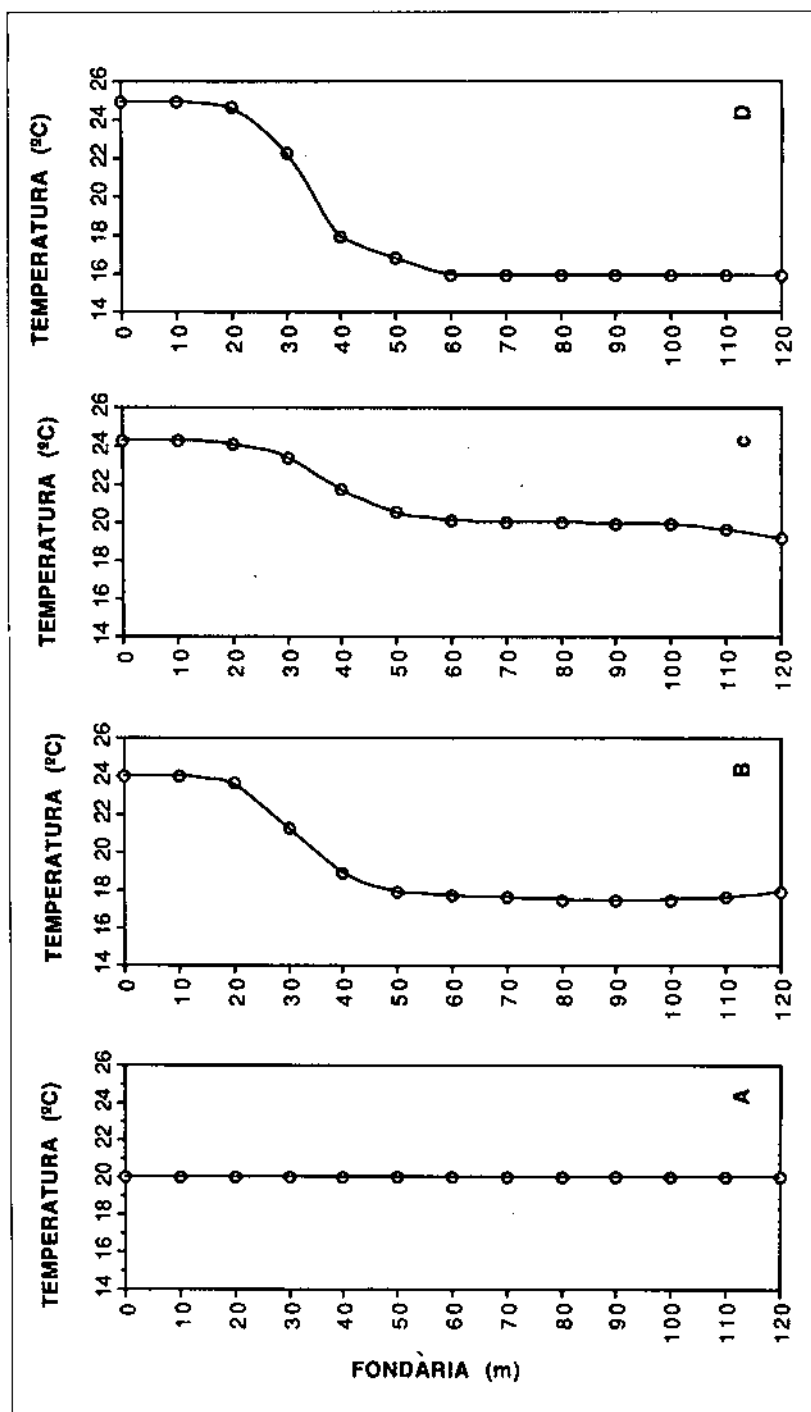


Figura 2. Gràfics de formació de la termoclina a la columna. A) inici de l'expertència, B) després de 30 minuts, C) després d'1 hora i D) després de 3 hores d'haver posat en funcionament el sistema.

molt conductora ($1800 \mu\text{Scm}^{-1}$), amb un contingut en sulfats equivalent a 1 g per litre, per a la part inferior de la columna, i per a la part superior de la columna s'empra aigua de l'aixeta (conductivitat més baixa, $700 \mu\text{Scm}^{-1}$), així s'aconsegueix una forta quimioclina.

Per mesurar l'eficiència del transport de calor al sistema es variava la temperatura del bany de refrigeració, deixant establir la temperatura de l'aigua de la columna. Per a aquesta tasca els termòmetres foren prèviament intercalibrats.

Mesures

La temperatura es mesura amb un termistor amb sonda submergible i registre en continu CRISON model T 637, i la conductivitat amb un conductímetre submergible i registre continu CRISON model 523.

La densitat de l'aigua s'ha calculat utilitzant la fórmula de Bürher i Ambühl (1975) que relaciona la conductivitat corregida i la temperatura. Aquesta fórmula és vàlida entre 0°C i 24°C , amb una desviació de 10^{-6}gcm^{-3} . S'ha utilitzat amb anterioritat i ha estat verificada per aigües sulfatades i carbonatades, condicions que s'ajusten a les del present treball.

RESULTATS I DISCUSSIÓ

Formació i control de l'estratificació tèrmica

Com s'observa a la figura 2, en la formació de l'estratificació tèrmica es produeix una intensificació del gradient al llarg del temps. Si bé la temperatura màxima de l'epilimnion es pot assolir de seguida (30 minuts), la de l'hipolimnion, baixa a una velocitat menor. Això és degut a les diferències entre els sistemes de control del calefactor i del refrigerador.

En aquestes condicions, el gradient màxim aconseguit és de 37°C m^{-1} , el qual assegura una bona separació de les dues masses d'aigua.

Si bé la temperatura de l'epilimnion es controla des de l'aigua mateixa, la de l'hipolimnion dependrà del fred aplicat a l'aigua que passa a través del tub refrigerador (vegeu material i mètodes). Cal conèixer la relació existent entre el fred aplicat i la temperatura de l'hipolimnion per tal de poder escollir la volguda.

A la figura 3, s'observa la relació entre la temperatura de l'aigua del bany de refrigeració i la de l'aigua de l'hipolimnion de la columna. El gràfic mostra tres zones ben diferenciades. A la primera zona (temperatures del corrent de refrigeració $< 13^\circ\text{C}$) la transferència de calor entre el circuit i la columna és baixa, segurament a causa de les interferències entre la temperatura del laboratori i del bany.

La segona zona, compresa entre T_E de 13 i 20°C , mostra una resposta lineal segons l'equació

$$T_H = 1,00036 \cdot T_E - 1,2164 \text{ amb } R^2 = 0,981$$

en la qual el pendent és gairebé 1, per tant, es pot considerar que la transferència de fred en aquesta zona és total.

A temperatures superiors ($> 20^{\circ}\text{C}$) s'observa com disminueix una altra vegada el pendent, cosa que pot interpretar-se com a limitacions intrínseques del sistema de serpentí par a la refrigeració.

Formació i control de l'estratificació química

En el primer experiment s'obtenen uns gradients de conductivitat poc importants, comparables a les trobades en estanys holomíctics (Taula 1). En la segona experiència (Fig. 4) s'observa com el gradient inicial (A) de conductivitat va perdent intensitat. Primerament hi ha una quimioclina de $12800 \mu\text{S}/\text{m}$. Al cap d'1 hora, la quimioclina observada presenta un gradient d' $11050 \mu\text{S}/\text{m}$ i al cap de 3 hores és $10200 \mu\text{S}/\text{m}$.

El debilitament s'observa en el gruix del gradient ja que dels 10 cm que ocupa inicialment, passa a 30 cm després de 3 hores. Aquesta pèrdua d'intensitat en el gradient s'explica per la difusivitat mol·lecular, que en aigües sulfatades és de l'ordre de $10^{-5} \text{cm}^2/\text{seg}$ ja que l'ió principal és el sulfat. Aquest fenomen s'ha observat en les cubetes meromíctiques de Banyoles, on la quimioclina pateix una debilitació temporal expressada en fenòmens de temperatura, turbulència i doble difusivitat (Casamitjana, 1989).

A les taules 1 i 2 es compara les condicions de columna amb la d'alguns estanys holomíctics i meromíctics respectivament. S'observa que en relació a la tempera-

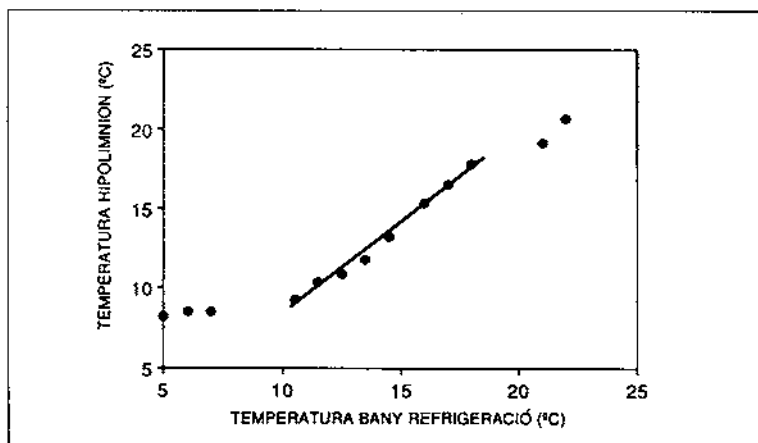


Figura 3. Relació entre la temperatura de l'aigua del bany de refrigeració de la columna i la temperatura de l'aigua de la columna refrigerada (hipolimnion). T_E = temperatura externa a la columna i T_H = temperatura de la zona hipolimnètica de la columna.

Taula 1. Valors de temperatura, conductivitat i densitat d'alguns llacs i estanyols holomíctics, durant el període de màxima estratificació, en comparació amb els valors obtinguts per a la columna experimental. (E: epilimnion; H: hipolimnion).

Lloc	Temp. (°C)		Cond. ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		Densitat (g.cm^{-3})		Referència
	E	H	E	H	E	H	
Lake Vechten	18	4,5	200	660	0,998727	1,000603	Riera et al., 1988
Schleinsee	22	14	250	600	0,999687	0,997924	Riera et al., 1988
Buchensee	20	12	630	830	0,998605	1,000702	Riera et al., 1988
Espolla*	11,5	14	440	470	0,999900	0,999591	Vila et al., 1988
Sisó	20	12	1600	1200	0,999226	1,000432	Gasol, 1988
Corominas	22	12	466	480	0,999687	1,000616	Riera, com. pers.
Negre	16	8	525	780	0,999311	1,000525	Riera, com. pers.
Columna	24,1	13,3	1227	1384	0,998064	1,000225	Aquest treball

* Dades de novembre de 1988

Taula 2. Valors de temperatura, conductivitat i densitat d'alguns llacs i estanyols meromíctics, durant el període de màxima estratificació, en hcomparació amb els valors obtinguts per a la columna experimental. (Mx: mixolimnion; Mn: monimnion).

Lloc	Temp. (°C)		Cond. ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)		Densitat (g.cm^{-3})		Referència
	Mx.	Mn.	Mx.	Mn.	Mx.	Mn.	
Banyoles							
C-IV	24	14	1360	2100	0,998099	1,000796	García-Gil et al, 1987
C-III	24	15	1200	2200	0,998005	1,000684	Abella, 1980
Vilar	26	15	1100	2000	0,997417	1,000540	Brugada i Montesinos, 1987
Columna	24	12,6	600	1800	0,997654	1,000806	Aquest treball

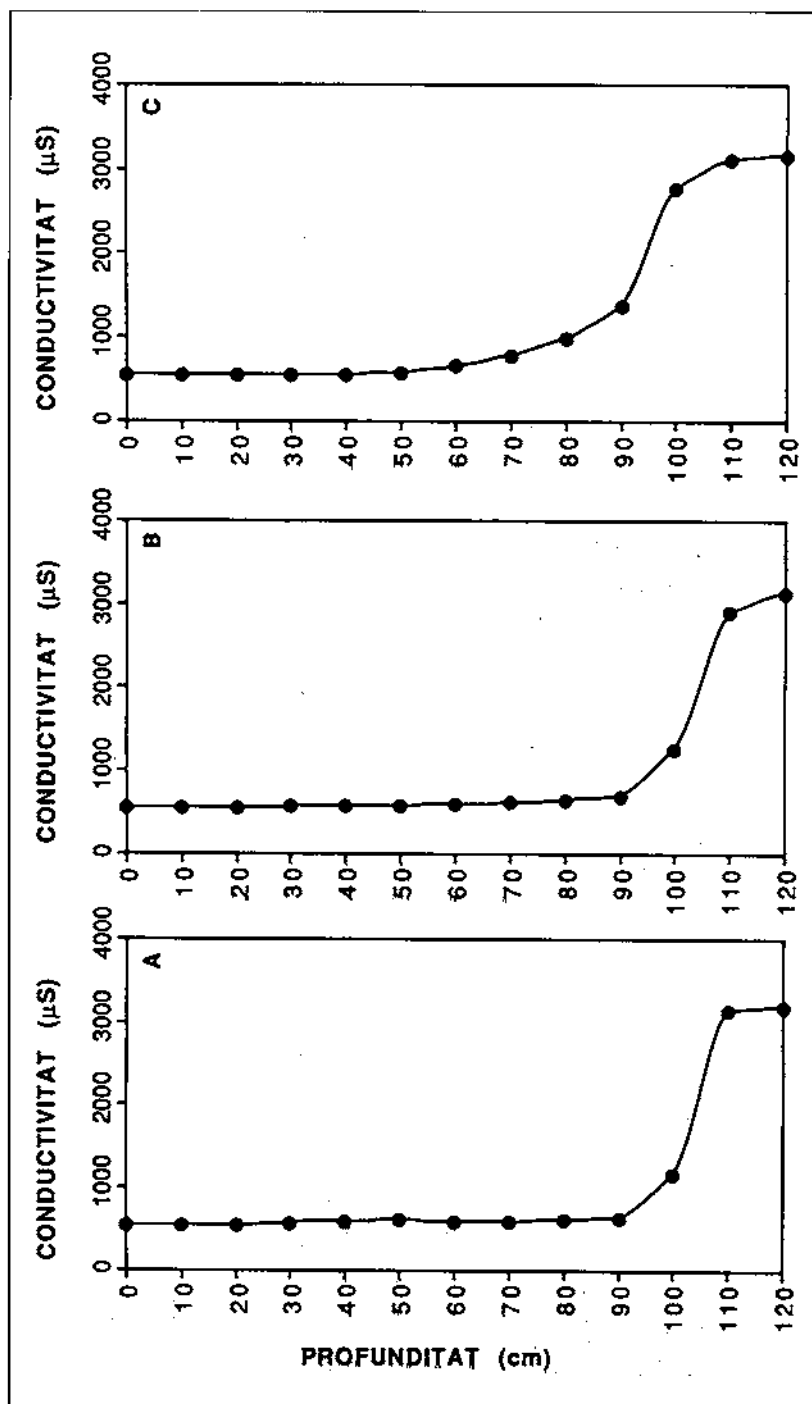


Figura 4. Gràfics de formació i evolució de la quimioclina. S'observa el debilitament del gradient al llarg del temps. A) inici, B) després d'1 hora i C) després de les 3 hores.

tura, les dades de la columna són similars a les mesurades en condicions naturals. Els valors de densitat epilimnètica i hipolimnètica obtinguts dins la columna són comparables als mesurats en les condicions naturals dels estanyos i llacs descrits. Únicament la temperatura de l'epilimnion de la columna és més alta en comparació als ambients naturals expressats a la taula 1.

El que diferencia les condicions de camp de les de la columna és la intensitat del gradient; en presentar una reducció de l'escala vertical del 10% en relació amb la fondària mitjana de les cubetes de l'estany (1,3 m/ 13 m) (Moreno-Amich i García-Beethov, 1989), i mantenir uns valors equivalents del paràmetre que determina la densitat de l'aigua, la intensitat del gradient resultant és 10 vegades superior en la columna que en les condicions naturals.

Finalment es pot concloure que amb les condicions assajades i amb les intensitats de gradient obtingudes seria molt difícil realitzar estudis de migració vertical de poblacions de bacteris fototròfics del sofre que es desenvolupessin en els esmentats gradients. Les situacions que poden trobar-se a la natura indiquen que els moviments verticals de les poblacions de bacteris fototròfics es produeixen al llarg de gradients poc intensos els quals estan sotmesos a variacions circadiàries més grans en les seves característiques físico-químiques (Abellà i García-Gil, 1988).

Per tal de simular aquestes condicions en la longitud de què es disposa, s'haurà de generar un gradient que gairebé ocupi la totalitat de la columna. Prèviament però, caldrà desenvolupar mètodes per aconseguir gradients estables d'oxigen, sulfhídric, potencial redox i llum, i modificar-los en funció dels requeriments.

Agraïments

Agraïm a X. Casamitjana i J. Pararols el seu ajut en la posada a punt de la columna i a R. Brunet la seva col·laboració en la discussió dels resultats.

Bibliografia

- ABELLÀ, C.A. (1980) *Dinàmica poblacional comparada de bacterias fotosintéticas planctónicas*. Tesis doctoral. UAB.
- ABELLÀ, C.A. & GARCIA-GIL, J. (1988). Diel migration as a mechanism for enrichment of natural populations of branching species of *Pelodictyon*. In: *Green Photosynthetic bacteria*. Olson, Ormerod, Amesz, Stackebrandt and Trüper (eds). Plenum Press. pp 269-286.
- BAKER, A.L. & BROOK, A.J. (1971). Optical density profiles as an aid to the study of microstratified phytoplankton populations in lakes. *Arch. Hydrobiol.* 69: 214-233.
- BOOKER, M.J.; DINSDALE, M.T. & WALSBY, A.E. (1976). A continuously monitored column for the study of stratification by planktonic organism. *Limnol and Oceanogr.* 21: 915-919.
- BOOKER, M.J. & WALSBY, A.E. (1981). Bloom formation and stratification by a planktonic blue-green alga in an experimental water column. *Br. Phycol.* 16: 411-421.
- BROCK, T.D. & MADIGAN, M.T. (1984). *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, pp: 601-603.

- BRUGADA, D. & MONTESINOS, E. (1987). Función detoxificadora de sulfhídrico de la comunidad fototrófica metalimnética de la laguna del Vilar (Banyoles). *Actas del IV Congreso Español de Limnología*, pp: 95-104.
- BÜHRER, H. & AMBÜHL, H. (1975). Einleitung von Abwasser in seen. *Schweiz Z. Hydrol.* 37: 347-369.
- CASAMITJANA, X. (1989). *Dinàmica física de les cubetes surgents de l'estany de Banyoles*. Tesis Doctoral. UAB.
- CLARK, E. & WALSBY, A.E. (1978). The development and vertical distribution of populations of gas-vacuolate bacteria in eutrophic, monomictic lake. *Arch. Microbiol.* 118: 229-233.
- GASOL, J.M. (1988). *Ecologia microbiana a l'estanyol d'en Sisó*. Tesis Doctoral. Univ. Autònoma de Barcelona.
- GARCÍA-GIL, J.; BRUNET, R. & ABELLÀ, C.A. (1987). Incidencia de la inestabilidad de la meromixis de C-IV (Lago de Banyoles, Girona) en la dinámica poblacional de bacterias fototróficas del azufre. *Actas del IV Congreso Español de Limnología*, pp: 85-94.
- MARGALEF, R. (1963). Modelos simplificados del ambiente marino para el estudio de la sucesión y distribución del fitoplancton y del valor indicado de sus pigmentos. *Invest. Pesq.* 23: 11-52.
- MORENO-AMICH, R. & GARCÍA-BERTHOUS, E. (1989). A new bathymetric map based on echo-sounding and morphometrical characterization of the lake of Banyoles (NE, Spain). *Hydrobiologia* 185: 83-90.
- RIERA, X.G.; GARCÍA-GIL, L.J. & ABELLÀ, C.A. (1988). Lake Vechten, Schleinsee and Buchensee as examples of west central european holomictic lakes containing phototrophic bacteria. *Scientia gerundensis*, 14: 57-69.
- SCHLEGEL, G.H. (1985). General microbiology. *Cambridge University Press*, pp: 385-387.
- SPITZER, D. & WERNAND, M.R. (1981). In situ measurements of absorption spectra in the sea. *Deep Sea Research*, 28: 165-174.
- STRICKLAND, J.D.; HOLM-HANSEN, O.; EPPLEY, R.W. & LINN, R.T. (1969). The use of a deep tank in phytoplankton ecology. 1. Studies of growth and composition of phytoplankton groups at low nutrients levels. *Limnol. Oceanogr.* 14: 23-34.
- VILA, X.; ABELLÀ, C.A. & BRUSI, D. (1988). Caracterització morfològica i limnològica del Clot d'Espolla i les surgències del pla d'Usall (pla de l'Estany). *Scientia gerundensis*, 14: 23-42.
- WALSBY, A.E. (1971). The pressure relationships of gas vacuoles. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B.* 178: 301-326.