

**Bacterias asociadas a la transformación de nitrógeno  
en la interfase agua-sedimento del cono hipolimnético  
del lago de Maracaibo, Venezuela**

Julio César Marín L., Hilda Ledo de Medina,

Jim L. Hernández R. y Olga E. Castejón F.

Laboratorio de Química Ambiental, Departamento de Química,  
Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Apartado Postal 526.

Maracaibo 4011, Venezuela. Correo electrónico: [hild@cantv.net](mailto:hild@cantv.net)

**Resumen**

Se determinó la abundancia de las bacterias asociadas a las transformaciones del nitrógeno en la interfase agua-sedimento de la zona central (región del cono hipolimnético) del Lago de Maracaibo, Venezuela, en función de la disponibilidad de oxígeno disuelto. Se colectaron muestras de agua sobrenadante y de sedimento para determinar el número de bacterias desnitrificantes, nitrificantes, fijadoras de N<sub>2</sub> (técnica de tubos múltiples) y heterótrofas (contaje en placas). También se realizaron mediciones *in situ* de pH, oxígeno disuelto, salinidad, conductividad eléctrica, potencial redox y temperatura, utilizando un Hydrolab Surveyor II. Bajo condiciones anaeróbicas, predominantes en la región del cono hipolimnético, las bacterias desnitrificantes se encontraron en mayor proporción, tanto en agua ( $1,40 \times 10^5$  NMP/100 mL) como en sedimento ( $>1,60 \times 10^6$  NMP/100 g peso húmedo), contribuyendo en gran medida a la pérdida de nitrógeno del sistema. Los resultados obtenidos constituyen un aporte importante para la comprensión de los procesos de movilización y transformación que sufren las diferentes formas de nitrógeno en la zona.

**Palabras clave:** Bacteria, cono hipolimnético, interfase agua-sedimento, Lago de Maracaibo, nitrógeno, oxígeno disuelto.

**BACTERIA ASSOCIATED WITH NITROGEN TRANSFORMATION IN THE WATER-  
SEDIMENT INTERFACE OF THE HYPOLIMNETIC CONE OF LAKE MARACAIBO,  
VENEZUELA**

**Abstract**

This study evaluated the abundance of bacteria associated with nitrogen transformation in the water-sediment interface of the central zone (hypolimnetic cone region) of Lake

Maracaibo, Venezuela, in relation to the availability of dissolved oxygen. Water and sediment samples were taken to estimate the number of denitrifying, nitrifying and N<sub>2</sub> fixing bacteria (multiple tube technique), as well as heterotrophic bacteria (plate counts). A Hydrolab Surveyor II was used for *In situ* measurements of pH, dissolved oxygen, electrical conductivity, salinity, redox potential and temperature. Under anaerobic conditions, predominant in the hypolimnetic cone, the denitrifying bacterial group was the most common in both water ( $1.40 \times 10^5$  MPN/100 mL) and sediment ( $>1.60 \times 10^6$  MPN/100 g wet weight), contributing greatly to nitrogen loss in the system. This study contributes to a better understanding of the transformation and mobility processes undertaken by the different forms of nitrogen in the hypolimnetic cone region.

**Key words:** Bacteria, dissolved oxygen, hypolimnetic cone, Lake Maracaibo, nitrogen, water-sediment interface.

Recibido: 01 Abril 2003 .Aceptado: 12 Enero 2006

## INTRODUCCIÓN

El Lago de Maracaibo es un estuario parcialmente mezclado y eutrófico que ha sufrido cambios en su composición química desde 1938 debido al inicio de las actividades de explotación petrolera (Herman 1997). A partir del año 1956, se ha venido produciendo un incremento en la concentración de nutrientes que ha convertido sus aguas en fuentes inaceptables para el consumo humano, riego y usos industriales. Entre estos nutrientes, el nitrógeno ha mostrado gran importancia ya que se ha considerado como el elemento limitante de la productividad del ecosistema (Parra-Pardi 1979, Herman 1997, Marín 1999).

El Lago de Maracaibo se caracteriza por mantener una estructura de dos estratos a todo lo largo del año. El estrato inferior o hipolimnio tiene forma de cono con su base en el fondo, en el área del centro del Lago y su ápex en un punto variable cerca del centro y a unos 5-10 m de profundidad, denominado cono hipolimnético. Las aguas del estrato superior o epilimnio tienen un movimiento en sentido contrario a las agujas del reloj, alrededor del cono hipolimnético, funcionando como un sistema vórtex. El cono juega un papel en el reciclaje de nutrientes, manteniendo un nivel relativamente alto en el centro del lago al existir gran acumulación de materia orgánica en descomposición y procesos de reducción de sus sedimentos (Parra -Pardi 1979, Herman 1997).

El intercambio de nutrientes entre los sedimentos y el agua que los cubre, es un factor importante en la dinámica del ciclaje de nutrientes en las aguas naturales. Su importancia

se basa en un aparente movimiento neto hacia los sedimentos en la mayoría de los cuerpos de agua. La eficacia de la inmovilización de los principales nutrientes en los sedimentos y la rapidez de los procesos de regeneración, están relacionados por una serie de factores físicos (temperatura y resuspensión), químicos (potencial redox y pH) y/o metabólicos (resuspensión y transformación). Los factores determinantes están asociados con la capacidad de los sedimentos para retener los nutrientes, las condiciones del agua situada sobre ellos y los seres vivos que los habitan, los cuales alteran el equilibrio de intercambio (Bonetto *et al.* 1988, Redshaw *et al.* 1990, Smayda 1990, Skovgaard y Ostergaard 1992).

La característica reguladora más visible de la interfase agua-sedimento es el contenido de oxígeno de esta zona. La degradación microbiana de la materia orgánica particulada muerta que se sedimenta, es el proceso principal de consumo de oxígeno en las aguas profundas (Wetzel 1981, Sundby *et al.* 1992). La demanda de oxígeno del agua por el sedimento es alta y está regida por la intensidad del metabolismo respiratorio microbiano. Esta demanda se produce a consecuencia de problemas de difusión y por el hecho de que los elementos inorgánicos, tales como el  $\text{Fe}^{2+}$ , se acumulan en forma reducida al ser liberados en el sedimento después de la descomposición de la materia viva (Brown y Johnson 1975, Madigan *et al.* 1998).

El ciclo del nitrógeno en los lagos es de naturaleza microbiana, constituyendo un proceso bioquímico en el cual se produce nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ) por la fijación, asimilación y desnitrificación del nitrato (Brown y Johnson 1975, Madigan *et al.* 1998). Estas transformaciones son realizadas por una gran variedad de microorganismos entre los que se encuentran representantes de arqueobacterias, proteobacterias, eubacterias Gram-positivas y hongos (Ye y Thomas 2001).

La presente investigación tiene como objetivo determinar la abundancia de bacterias asociadas a la transferencia de nitrógeno en la interfase agua-sedimento del cono hipolimnético localizado en el centro del Lago de Maracaibo.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **ÁREA DE ESTUDIO**

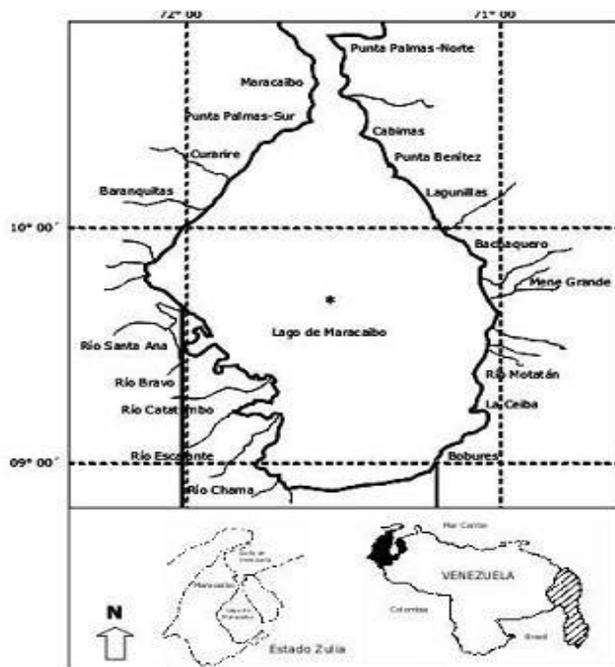
El Lago de Maracaibo está localizado en la parte noroeste de Venezuela, estado Zulia, entre los 70°30' y 73°24' de longitud oeste y entre los 8°22' y 11°51' de latitud norte (Fig. 1). Tiene un área superficial aproximada de 12.000 Km<sup>2</sup> y 95.923 Km<sup>2</sup> de drenaje, presenta una profundidad promedio de 20 m y una máxima de 34 m, su volumen es de

280.000 × 10<sup>6</sup> m<sup>3</sup> y el tiempo de residencia hidráulica es de 6 años. Su longitud es de 152 Km y el ancho promedio de 78 Km. La temperatura ambiente media anual fluctúa entre 26 y 29 °C. La temperatura del agua exhibe muy pequeñas variaciones, cuyo valor medio es de 28 °C (Parra-Pardi 1979, Herman 1997, Gardner *et al.* 1998).

En la cuenca del Lago de Maracaibo la precipitación es de 500-600 mm/año, con dos períodos máximos, de los cuales el mayor se observa entre Septiembre y Diciembre. Sin embargo, los valores pueden llegar por encima de los 2800 mm/año en la zona sur del Lago. La humedad relativa es bastante alta, variando entre 75 y 90% (Corporación Andina de Fomento 2000).

## MUESTREO

Las muestras de agua y de sedimento se colectaron a 30 m de profundidad en el centro del Lago de Maracaibo (71° 31' 41" W-09° 51' 17" N), región donde se encuentra el cono hipolimnético (Fig. 1), entre los meses de marzo y junio de 1998 (época de sequía); las muestras de sedimentos (3) se colectaron utilizando una draga tipo Ekman, la cual permite obtener una muestra superficial representativa, mientras que las de agua (3) se extrajeron de la región inmediatamente superior a los sedimentos (agua sobrenadante) utilizando una bomba de diafragma acoplada a una manguera de 50 m de longitud. Ambos tipos de muestras se refrigeraron y se trasladaron al laboratorio inmediatamente, donde se homogeneizaron para determinar las concentraciones de las diferentes formas de nitrógeno, así como para enumerar los grupos bacterianos asociados a su transformación.



## PARÁMETROS FISIQUÍMICOS

En el agua sobrenadante se realizaron las siguientes mediciones *in situ* (n = 10): oxígeno disuelto, salinidad, pH, temperatura, potencial redox y conductividad eléctrica, utilizando un Hydrolab Surveyor II.

## PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

**Muestras de agua.** Las muestras de agua se colectaron en envases plásticos de 2 L de capacidad, mientras que las correspondientes a los análisis bacteriológicos se tomaron en botellas de vidrio estériles de 200 mL de capacidad. Los análisis de nitrito, nitrato y grupos bacterianos se realizaron antes de las 6 h siguientes al muestreo. La determinación de las formas de nitrógeno se realizó por triplicado mientras que los análisis bacterianos se llevaron a cabo por duplicado.

Se determinaron las concentraciones de  $\text{N-NO}_2^-$  y  $\text{N-NO}_3^-$  (cromatografía iónica, utilizando un equipo Dionex 2000i/SP),  $\text{N-NH}_4^+$  (método potenciométrico directo, utilizando un electrodo selectivo para el ión amonio Orion Modelo 95-12), nitrógeno orgánico (nitrógeno total Kjeldahl -  $\text{N-NH}_4^+$ ) y nitrógeno total (nitrógeno total Kjeldahl +  $\text{N-NO}_2^-$  +  $\text{N-NO}_3^-$ ), siguiendo la metodología estándares (APHA *et al.* 1998).

**Muestras de sedimento.** Para los análisis de las distintas formas de nitrógeno se depositaron 250 g de muestra de sedimento en bolsas plásticas con cierre hermético; y para los análisis bacteriológicos, se emplearon aproximadamente 100 g de muestra, protegida con papel de aluminio esterilizado *in situ* con alcohol y una flama, y se colocaron dentro de una bolsa plástica con cierre hermético. Los análisis de nitrito, nitrato y grupos bacterianos se realizaron antes de las 6 h siguientes al muestreo. Los análisis de las formas de nitrógeno en los sedimentos se realizaron por triplicado mientras que el análisis bacteriano se realizó por duplicado.

Las muestras se liofilizaron en un equipo Labconco Freeze Dry System Lyph-Lock 6 y se conservaron en un desecador de vidrio hasta el momento de procesarlas.

Para el análisis de  $\text{N-NO}_2^-$  se utilizó el método colorimétrico estándar con sulfanilamida y N-(1-naftil) etilendiamina dihidrocloruro, previa extracción con 2,5 g de muestra y 50 mL de KCl 2N. Para el análisis de  $\text{N-NO}_3^-$  se utilizó el método de reducción en la columna de Cd-Cu, previa extracción con 2,5 g de muestra y 50 mL de KCl 2N, mientras que para el análisis de  $\text{N-NH}_4^+$  se empleó el método potenciométrico directo, utilizando un electrodo Orion Modelo 95-12, previa extracción con 2,5 g de muestra y 50 mL de KCl 2N (Marín *et*

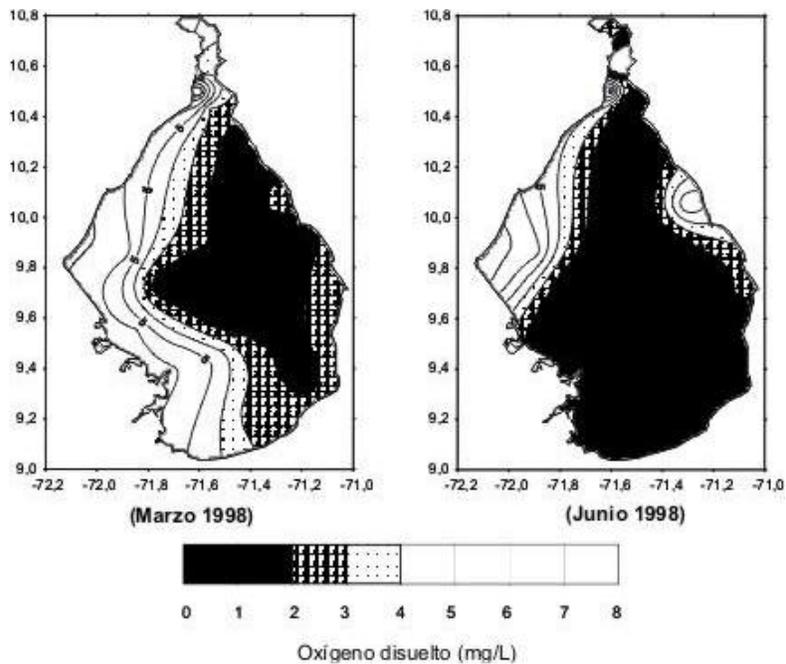
al. 1997). La concentración de nitrógeno orgánico se obtuvo sustrayendo el  $\text{N-NH}_4^+$  al nitrógeno total Kjeldahl.

Para la determinación de nitrógeno total Kjeldahl se digirieron 0,2 g de muestra con 10 mL de una mezcla de peróxido de hidrógeno-ácido sulfúrico (3:1) en un bloque digestor Hach Modelo 23130-20 a una temperatura de 440°C por aproximadamente 15 min. Posteriormente, el residuo se destiló según el método Kjeldahl estándar (APHA *et al.* 1998). Para obtener la concentración de nitrógeno total se sumaron las concentraciones de  $\text{N-NO}_2^-$ ,  $\text{N-NO}_3^-$  y nitrógeno total Kjeldahl.

## **CUANTIFICACIÓN DE LOS GRUPOS BACTERIANOS**

El número de bacterias asociadas a la transferencia de nitrógeno en la interfase agua-sedimento del centro del Lago de Maracaibo se estimó de acuerdo a la técnica de tubos múltiples, determinando el NMP/100 mL (agua) o NMP/100 g (sedimento) (Alexander y Clark 1965, Verhagen y Laanbroek 1991, Verhagen *et al.* 1992, Millán *et al.* 1996, APHA *et al.* 1998). Las diluciones se prepararon en solución buffer de fosfato compuesta por: 0,139 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,027 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1,0 L de agua destilada a  $\text{pH} = 7,0$  (Alexander y Clark 1965).

Considerando la variación de la concentración de oxígeno disuelto que puede generarse en la región del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo durante las diferentes épocas del año (Fig. 2), las muestras de agua y sedimento se incubaron bajo dos condiciones de oxigenación diferentes (aerobiosis y anaerobiosis), con la finalidad de establecer la presencia y abundancia de los diferentes grupos bacterianos. Esta incubación se realizó a temperatura ambiente ( $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ) por un período aproximado de 21 días (excepto para el conteo de bacterias heterótrofas). La condición anaeróbica se reguló por el uso de sobres para cultivos anaeróbicos (Microbiology Anaerocult C, Merck) en campanas herméticas.



Los grupos bacterianos evaluados y los medios de cultivos utilizados se describen a continuación:

**Bacterias nitrificantes y desnitrificantes:** se usaron los siguientes medios de cultivo (Verhagen y Laanbroek 1991, Verhagen *et al.* 1992):

- **Medio amonio:**  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ : 0,5 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 1,0 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 0,027 g;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,03 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,3 g;  $\text{CaCO}_3$ : 7,5 g;  $\text{CaCl}_2$ : 0,01 g; solución elementos traza: 1,0 mL; agua destilada: 1,0 L; pH = 7,5.
- **Medio nitrito:**  $\text{KNO}_2$ : 0,01 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 1,0 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 0,027 g;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,03 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,1 g;  $\text{CaCO}_3$ : 1,0 g;  $\text{CaCl}_2$ : 0,3 g; solución elementos traza: 1,0 mL; agua destilada: 1,0 L; pH = 7,5.
- **Medio nitrato:**  $\text{KNO}_3$ : 0,02 g;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 1,0 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 0,027 g;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,03 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,1 g;  $\text{CaCO}_3$ : 1,0 g;  $\text{CaCl}_2$ : 0,3 g; solución elementos traza: 1,0 mL; agua destilada: 1,0 L; pH = 7,5.

Después del período de incubación las transformaciones de las formas de nitrógeno se verificaron empleando el reactivo de Nessler (amonio), reactivo de color (nitrito) y una mezcla de Cu-Zn-MnO<sub>2</sub> (nitrato) (Alexander y Clark 1965, APHA *et al.* 1998).

**Bacterias fijadoras de nitrógeno:** se empleó un medio de cultivo libre de nitrógeno compuesto por:  $\text{NaHPO}_4$ : 0,189 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 0,011 g;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,006 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ :

0,2 g;  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 0,02 g;  $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : 0,01 g;  $\text{NaHCO}_3$ : 0,05 g; solución elementos traza: 1,0 mL; agua destilada: 1,0 L; pH = 7,8.

La solución de elementos traza estuvo compuesta por:  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ : 0,1 g;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 0,2 g;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ : 0,002 g;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0,1 g;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ : 0,02 g; agua destilada: 1,0 L (Verhagen y Laanbroek 1991, Verhagen *et al.* 1992).

**Bacterias heterótrofas:** se utilizó la técnica de contaje estándar en placas, utilizando agar conteo (Hi-Media Laboratories) (Millán *et al.* 1996, APHA *et al.* 1998). Las diluciones se prepararon en agua peptonada salina al 8,0‰. Estas muestras se incubaron a 35 °C durante 48 h, bajo las condiciones de oxigenación descritas anteriormente.

A todos los medios de cultivos utilizados se les adicionó una cantidad de NaCl equivalente a la salinidad de la muestra de agua sobrenadante (8,0‰).

Las transformaciones bioquímicas llevadas a cabo en cada uno de los medios de cultivos se corroboraron utilizando cepas controles ATCC positivas y negativas.

## **CÁLCULOS ESTADÍSTICOS**

Se construyeron isolíneas a partir de los datos de oxígeno disuelto del agua sobrenadante, utilizando el programa Surfer (Win) 32 versión 6,04 (1986) Surface Mapping Systems. Estas concentraciones de oxígeno disuelto se determinaron durante dos meses del año (marzo y junio) en toda el área del Lago, utilizando un Hydrolab Surveyor II, con la finalidad de mostrar su dinámica y la influencia que podría tener sobre las formas de nitrógeno.

Se utilizó el programa Microsoft Excel para Windows 2000, para calcular las medidas de tendencia central (media aritmética) y las medidas de dispersión (desviación estándar y desviación estándar relativa).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **CARACTERÍSTICAS DE LA INTERFASE AGUA-SEDIMENTO**

Las características fisicoquímicas del agua sobrenadante del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo se presentan en la Tabla 1.

**TABLA 1.** Características fisicoquímicas del agua sobrenadante del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo.

| Parámetro                          | X ± DS       |
|------------------------------------|--------------|
| Oxígeno disuelto<br>(mg/L)         | 1,90 ± 0,62  |
| Conductividad eléctrica<br>(mS/cm) | 17,40 ± 3,21 |
| Potencial redox (mV)               | -91,0 ± 6,07 |
| Salinidad (‰)                      | 8,0 ± 0,5    |
| Temperatura (°C)                   | 29,68 ± 0,50 |
| pH                                 | 6,84 ± 0,25  |

n = 10. X: media aritmética. DS: desviación estándar.

Las concentraciones de las diferentes formas de nitrógeno evaluadas en la interfase agua-sedimento del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo se presentan en las Tablas 2 y 3. En las muestras de agua sobrenadante, el contenido de N-total es comparable al reportado por Chapman y Edwards (2001) en riachuelos de Gran Bretaña (1,50 mgN/L), Tabla 2, pero menor que el descrito por Marín *et al.* (1999) en el embalse del río Socuy, Venezuela (4,02 mgN/L), con un hipolimnio anaeróbico análogo al de la región central del Lago de Maracaibo. Por otra parte, las concentraciones de nitrógeno total de los sedimentos del centro del Lago de Maracaibo son mayores que los reportados para el Lago de Cidra, Puerto Rico (420,20-3.501,68 mgN/Kg) (Ramos 1998), y menores que los correspondientes al Lago Vesijärvi, Finlandia (7.983,82-13.026,23 mgN/Kg) (Tuominen *et al.* 1996).

**TABLA 2.**

Concentraciones de las formas de nitrógeno en el agua sobrenadante del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo.

| Nitrógeno                      | mg/L    |
|--------------------------------|---------|
| N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | < 0,001 |
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 0,112   |
| N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | 1,01    |
| N-Orgánico                     | 0,33    |
| N-Total                        | 1,46    |

n = 3. Desviación estándar relativa = 4,5%.

**TABLA 3.** Concentraciones de las diferentes formas de nitrógeno en los sedimentos del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo.

| Nitrógeno                      | mg/Kg sedimento seco |
|--------------------------------|----------------------|
| N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | 0,067                |
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 9,290                |
| N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | 33,77                |
| N-Orgánico                     | 5.430,93             |
| N-Total                        | 5.474,12             |

n = 3. Desviación estándar relativa = 9,2%.

La dinámica del nitrógeno en los sedimentos del Lago de Maracaibo se conoce poco; gran cantidad del nitrógeno de los sedimentos se encuentra inmovilizado y adsorbido a partículas inorgánicas. El agua intersticial de los sedimentos normalmente presenta una concentración mucho más elevada de compuestos solubles del nitrógeno, principalmente N-NH<sub>3</sub> y N-orgánico, que el agua del lago (Wetzel 1981). Aunque el ritmo de difusión es extremadamente lento, es evidente que se produce, hasta cierto punto, una mezcla en la superficie de los sedimentos, a consecuencia de los movimientos del agua profunda, de la actividad de los organismos bentónicos y de la pérdida de gases del sedimento en forma de burbujas (Wetzel 1981). La oxidación de la superficie del sedimento normalmente se extiende sólo a unos pocos milímetros de profundidad (favorecida por el efecto de la cuña salina) (Herman 1997), pero la microzona oxidada es importantísima en lo que se refiere a las propiedades de solubilidad y de absorción, en particular del amonio, y para las transformaciones microbianas. El intercambio de nitrógeno entre los sedimentos y el agua varía también enormemente según la composición del sedimento (Wetzel 1981).

La variabilidad de las concentraciones de oxígeno disuelto que experimenta esta interfase durante el año (Fig. 2), es otro factor que determina la movilidad y transformaciones de los compuestos de nitrógeno (Downes 1988, Ledo *et al.* 2003), así como de los grupos microbiológicos relacionados.

### **COMUNIDAD BACTERIANA DE LA INTERFASE AGUA-SEDIMENTO**

El número de bacterias (NMP/100 mL y NMP/100 g) asociadas a la transferencia de nitrógeno en la interfase agua-sedimento del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo, con relación a la disponibilidad de oxígeno disuelto, se muestra en la Tabla 4. Se evidenció la presencia de un gran número de bacterias asociadas a las transformaciones del nitrógeno en la interfase agua-sedimento del centro del Lago de Maracaibo, las cuales intervienen sobre la movilidad y disponibilidad de este elemento en el sistema. La

abundancia relativa de los diferentes grupos bacterianos depende de la disponibilidad de oxígeno disuelto durante la capa de incubación, correspondiendo con las variaciones reales del sistema (Fig. 2).

Las bacterias nitrificantes se encontraron en menor proporción, especialmente bajo condiciones anaeróbicas; no se detectó su presencia ni en las muestras de agua ( $<2,00 \times 10^2$  NMP/100 mL) ni en las de sedimento ( $<2,00 \times 10^3$  NMP/100 g), Tabla 4. Esto se debe a que la nitrificación ( $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ) es un proceso que depende estrictamente de la presencia de oxígeno y es realizada por un grupo de bacterias quimioautótrofas de crecimiento lento, que pueden ser inhibidas por las condiciones ambientales extremas del sistema (oxígeno disuelto, metales pesados, pH, temperatura y otras) (Ye y Thomas 2001).

Se ha reportado que la oxidación de amonio a nitrito puede ser llevada a cabo por microorganismos de los géneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus* y *Nitrosovibrio*, que poseen la enzima amoníaco-oxigenasa, mientras que la oxidación de nitrito a nitrato puede ser producida por los géneros *Nitrospina*, *Nitrococcus* y el más comúnmente aislado, *Nitrobacter*, empleando la enzima nitrito-oxidasa (Knowles 1982). La transformación de  $\text{NH}_4^+ \rightarrow$  hidroxilamina  $\rightarrow \text{NO}_2^-$ , catalizada por la enzima hidroxilamina oxidoreductasa, se ha descrito que es realizada por bacterias aeróbicas quimiolitotótrofas, oxidadoras de amonio, y muchos heterótrofos como *Paracoccus pantatropa* y *Alcaligenes faecalis* (Ye y Thomas 2001).

**TABLA 4.** Abundancia de bacterias asociadas a la transferencia de nitrógeno en la interfase agua-sedimento del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo.

| Tipo de muestra | Condición de oxigenación | Bacterias desnitrificantes | Bacterias nitrificantes | Bacterias fijadoras de $\text{N}_2$ | Bacterias heterótrofas |
|-----------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Agua            | Aeróbico                 | $^a 2,00 \times 10^3$      | $^a 1,60 \times 10^3$   | $^a 2,00 \times 10^3$               | $^c 123 \times 10^3$   |
|                 | Anaeróbico               | $^a 1,40 \times 10^5$      | $^a <2,00 \times 10^2$  | $^a 1,42 \times 10^4$               | $^c 97 \times 10^3$    |
| Sedimento       | Aeróbico                 | $^b 1,40 \times 10^4$      | $^b 1,60 \times 10^6$   | $^b 1,60 \times 10^5$               | $^d 498 \times 10^4$   |
|                 | Anaeróbico               | $^b >1,60 \times 10^6$     | $^b <2,00 \times 10^3$  | $^b 1,60 \times 10^6$               | $^d 95 \times 10^4$    |

a: NMP/100 mL. b: NMP/100g sedimento húmedo. c: UFC/mL. d: UFC/g sedimento húmedo.

El número de bacterias fijadoras de nitrógeno, es mayor bajo condiciones anaeróbicas, especialmente en el sedimento ( $1,60 \times 10^6$  NMP/100 g) (Tabla 4); esto puede deberse a que la enzima nitrogenasa es lábil al  $\text{O}_2$ . Adicionalmente, la fijación bacteriana del  $\text{N}_2$  en

los ecosistemas acuáticos constituye una fuente de poca importancia, excepto bajo determinadas condiciones, como cuando se produce un agotamiento severo de los compuestos inorgánicos de nitrógeno en la zona trofógena (Wetzel 1981). La contribución de las bacterias de vida libre a la fijación de  $N_2$  en los ambientes acuáticos no es muy clara, aunque los organismos fijadores de  $N_2$  como *Azotobacter* sp., *Clostridium* sp., *Desulphovibrio* sp. y las bacterias fotosintéticas se han aislado de la columna de agua, de la superficie de los macrofitos y de los sedimentos (Brown 1988). Las bacterias fotosintéticas alcanzan gran diversidad en los estratos profundos situados en las regiones de interfase entre el epilimnio aerobio y el metalimnio y el hipolimnio anaerobio de los lagos eutróficos, si existe suficiente luz como para que se produzca fotosíntesis (Wetzel 1981).

El grupo de las bacterias desnitrificantes se encontró en mayor número, tanto en agua ( $1,40 \times 10^5$  NMP/100 mL) como en sedimento ( $>1,60 \times 10^6$  NMP/100 g), en comparación con los demás grupos bacterianos estudiados. Estos microorganismos contribuyen en gran medida a la pérdida de N del sistema ya que convierten el  $NO_3^-$  a óxido nitroso ( $N_2O$ ) o nitrógeno gaseoso ( $N_2$ ), permitiéndoles el uso de aceptores alternativos de electrones bajo condiciones limitantes de oxígeno (Downes 1988, Ye y Thomas 2001). Este hecho implica un desequilibrio en el ciclo del N en cuanto al número de bacterias y al mantenimiento de este elemento en el ecosistema; sin embargo, se deben considerar las tasas de movilización de nitrógeno por parte de cada grupo bacteriano.

Se ha reportado que las bacterias desnitrificantes como *Escherichia coli* y *Klebsiella aerogenes* (anaerobios facultativos); y un cierto número de clostridios (anaerobios estrictos) (Knowles 1982), podrían estar participando en estas transformaciones, lo cual implica la pérdida de nitrógeno por desnitrificación.

La desnitrificación se puede considerar una desventaja en muchos ambientes pobres en nitrógeno. Sin embargo, en situaciones de alta carga de nitrógeno, la activación de la desnitrificación podría ser un proceso de limpieza beneficioso. En tal sentido y considerando que el nitrógeno es el nutriente limitante en el Lago de Maracaibo, el desarrollo del proceso de desnitrificación estaría limitando su productividad. Sin embargo, debido a la naturaleza eutrófica de este sistema, la activación de este proceso atenúa el empobrecimiento de la calidad de sus aguas. Para apoyar este hecho, Ledo *et al.* (2003) han calculado que 1,89% del nitrógeno total liberado de los sedimentos del cono hipolimnético del Lago de Maracaibo se pierde por desnitrificación.

Considerando que la condición anaeróbica es la que prevalece en el cono hipolimnético

del Lago, la proporción de bacterias encontradas corresponde con el metabolismo del nitrógeno bajo esta condición: bacterias desnitrificantes > bacterias fijadoras de  $N_2$  > bacterias nitrificantes (tanto en agua sobrenadante como en sedimento).

La baja concentración de oxígeno disuelto de la capa superior a los sedimentos, favorece el desarrollo de procesos anaeróbicos como la desnitrificación y mecanismos fermentativos. El incremento en la eliminación de  $NO_3^-$  está relacionado con vías desasimilatorias como la desnitrificación y reducción de  $NO_3^-$  a  $NO_2^-$  (Mermillod-Blondin *et al.* 2005).

Las bacterias heterótrofas se presentaron en mayor proporción en las muestras de sedimento y bajo condiciones aeróbicas ( $498 \times 10^4$  UFC/g). Estos resultados indican la predominancia de bacterias heterótrofas con metabolismo aeróbico en la interfase agua-sedimento del centro del Lago de Maracaibo. Al comparar esta abundancia de bacterias heterótrofas con las reportadas por Millán *et al.* (1996) para esta misma zona, se observa un incremento en los valores, debido posiblemente a un mayor influjo de materia orgánica hacia el cono hipolimnético del centro del Lago de Maracaibo en la actualidad, gracias al aumento de la productividad primaria e intensificación del estado hipereutrófico del sistema (Gardner *et al.* 1998, Ledo *et al.* 2003). De esta manera, se crean las condiciones propicias para la proliferación de este grupo bacteriano.

Debido a que no existe información cuantitativa acerca de las tasas de desnitrificación, nitrificación y fijación bacteriana de nitrógeno en el Lago de Maracaibo, este trabajo constituye un paso importante hacia el conocimiento de los grupos bacterianos relacionados con la movilidad de este importante nutriente dentro de este ecosistema.

## **CONCLUSIONES**

Las transformaciones del nitrógeno en la interfase agua-sedimento de la zona central del Lago de Maracaibo (región del cono hipolimnético) son de naturaleza microbiana. La reducción y oxidación bacterianas de los compuestos del nitrógeno están estrechamente relacionadas con la disponibilidad de oxígeno disuelto.

Los medios de cultivo inorgánicos utilizados en este estudio permitieron cuantificar la abundancia de los grupos bacterianos relacionados con la movilidad del nitrógeno. Bajo condiciones anaeróbicas (predominantes en el cono hipolimnético) la proporción de bacterias es: bacterias desnitrificantes > bacterias fijadoras de  $N_2$  > bacterias nitrificantes, siendo las bacterias desnitrificantes las que se encuentran en mayor proporción (tanto en agua sobrenadante como en sedimento), contribuyendo a la pérdida

de nitrógeno del sistema.

Los resultados de este estudio contribuyen a la comprensión de los procesos de movilización y transformación que sufren las diferentes formas de nitrógeno en el cono hipolimnético del Lago, lo cual puede ser considerado en los cálculos del balance hidrológico del sistema del Lago de Maracaibo.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto para el Control y la Conservación del Lago de Maracaibo (ICLAM), por el aporte de las muestras de agua y sedimento, y a Gonzalo Godoy por sus contribuciones y comentarios.

## **LITERATURA CITADA**

1. ALEXANDER M. y F. CLARK. 1965. Nitrifying bacteria. Cornell University and the Soil and Water Conservation Research Division, USA, 1477 pp.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA) Y WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION (WEF). 1998. Standard methods for examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> Edition. Washington D.C. USA, 1060 pp.
3. BONETTO C., F. MINZONI y H. GOLTERMAN. 1988. The nitrogen cycle in shallow water sediment systems of rice fields. Part II: Fractionation and bio-availability of organic nitrogen compounds. *Hydrobiologia* 159: 203-210.
4. BROWN C. 1988. Nitrate metabolism by aquatic bacteria. University Edinburgh, Scotland, *Methods in aquatic bacteriology*, John Wiley & Sons Ltd, USA, 389 pp.
5. BROWN C. y B. JOHNSON. 1975. Inorganic nitrogen assimilation in aquatic microorganisms. University of Newcastle upon Tyne, England, 115 pp.
6. CHAPMAN P. y A. EDWARDS. 2001. Inorganic and organic losses of nitrogen from upland regions of Britain: concentrations and fluxes. In *Optimizing Nitrogen Management in Food and Energy Production and Environmental Protection: Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Nitrogen Conference on Science and Policy*. The Scientific World, 1(S2): 589-596.
7. CORPORACIÓN ANDINA DE FOMENTO (CAF). 2000. Las lecciones de El Niño:

memorias del fenómeno El Niño 1997-1998: retos y propuestas para la región andina: Venezuela. Caracas. 282 pp.

8. DOWNES M. 1988. Aquatic nitrogen transformations at low oxygen concentrations. *Applied and Environmental Microbiology* 54: 172-175.

9. GARDNER W., J. CAVALETTO, H. BOOTSMA, P. LAVRENTYEV y F. TRONCONE. 1998. Nitrogen cycling rates and light effects in tropical Lake Maracaibo, Venezuela. *Limnology and Oceanography* 43: 1814-1825.

10. HERMAN S. 1997. Proceso de salinización en el Lago de Maracaibo. División de Información y relaciones institucionales. Instituto para el Control y la Conservación del Lago de Maracaibo (ICLAM). Venezuela, 109 pp.

11. KNOWLES R. 1982. Denitrification. *Microbiological Reviews* 46: 43-70.

12. LEDO H., J. MARÍN, E. GUTIÉRREZ y J. MORALES. 2003. Nitrogen mobility at the sediment-water interface of Lake Maracaibo, Venezuela. *Water, Air, and Soil Pollution* 145: 341-357.

13. MADIGAN M., J. MARTINKO y J. PARKER. 1998. Brock. *Biología de los microorganismos*. Octava edición. Prentice Hall, Madrid, 1064 pp.

14. MARÍN J. 1999. Dinámica del nitrógeno en la interfase agua-sedimento del Lago de Maracaibo, Venezuela. Universidad del Zulia. Postgrado de Ingeniería. Tesis de Master. Venezuela, 100 pp.

15. MARÍN J., M. ROMERO, M. COLINA y H. LEDO. 1997. Determinación de pigmentos en sedimentos de un cuerpo de agua tropical. *Revista Técnica de Ingeniería* 20(2): 87-94.

16. MARÍN J., H. LEDO, J. HERNÁNDEZ y C. LÓPEZ. 1999. Variación vertical y temporal de la productividad primaria y su relación con algunos elementos nutritivos en un reservorio de agua tropical, río Socuy. Venezuela. *Ciencia* 7(2): 163-180.

17. MERMILLOD-BLONDIN F., L. MAUCLAIRE y B. MONTUELLE. 2005. Use of slow filtration columns to assess oxygen respiration, consumption of dissolved organic carbon, nitrogen transformations, and microbial parameters in hyporheic sediments. *Water Research* 39: 1687-1698.

18. MILLÁN R., G. GODOY y M. MONTIEL. 1996. Bacterias sulfato reductoras en

muestras de sedimentos del Lago de Maracaibo, Venezuela. *Ciencia* 4: 9-16.

19. PARRA-PARDI G. 1979. Estudio sanitario integral sobre la contaminación del Lago de Maracaibo y sus afluentes. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables (MARNR). Dirección de investigación del ambiente. Venezuela, 222 pp.

20. RAMOS O. 1998. Total phosphorus and total nitrogen mass balances for Lago de Cidra, Central Puerto Rico. Proceedings Third International Symposium on Tropical Hydrology. Puerto Rico. Disponible en: <http://www.awra.org/proceedings/sanjuan98/>

21. REDSHAW C., C. MASON, C. HAYES y R. ROBERTS. 1990. Factors influencing phosphate exchange across the sediment-water interface of eutrophic reservoirs. *Hydrobiologia* 192: 233-245.

22. SKOVGAARD H. y F. OSTERGAARD. 1992. Importance of temperature, nitrate and pH for phosphate release from aerobic sediments of four shallow eutrophic lakes. *Limnology and Oceanography* 37(3): 577-591.

23. SMAYDA T. 1990. The influence of lime and biological activity on sediment pH, redox, and phosphorous dynamics. *Hydrobiologia* 192: 191-203.

24. SUNDBY B., C. GOBEL y A. MUCCI. 1992. The phosphorus cycle in coastal marine sediments. *Limnology and Oceanography* 37(6): 1129-1145.

25. TUOMINEN L., T. KAIRESALO, H. HARTIKAINEN y P. TALLBERG. 1996. Nutrient fluxes and microbial activity in sediment enriched with settled seston. *Hydrobiologia* 335: 19-31.

26. VERHAGEN F. y H. LAANBROEK. 1991. Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy-limited chemostats. *Applied and Environmental Microbiology* 57(11): 3255-3263.

27. VERHAGEN F., H. DUYTS y H. LAANBROEK. 1992. Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in continuously percolated soil columns. *Applied and Environmental Microbiology* 58(10): 3303-3311.

28. WETZEL R. 1981. *Limnología*. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España, 679 pp.

29. YE R. y S. THOMAS. 2001. Microbial nitrogen cycles: physiology, genomics and applications. *Current Opinion in Microbiology* 4: 307-312.