

## Heterotrophic and autotrophic metabolism in Mediterranean streams

Anna M. Romaní i Cornet

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Universitat de Barcelona  
Facultat de Biologia  
Departament d'Ecologia

**HETEROTROPHIC AND AUTOTROPHIC METABOLISM IN  
MEDITERRANEAN STREAMS**

Ph. D. Thesis  
Anna M. Romaní i Cornet

**RESUM**



## **Resum**

### **Capítol 2. Metodologia.**

La tècnica principal utilitzada en aquest estudi és la mesura de les activitats ectoenzimàtiques en els diferents biofilms - epilítics, epipsàmmsics, crosta cianobacteriana - de rius utilitzant els substrats artificials lligats al compost fluorescent metilumbeliferona. En aquest capítol es descriu el desenvolupament d'aquesta metodologia (procés d'incubació, concentració dels substrats utilitzats, temps d'incubació) i la seva aplicació en l'estudi dels biofilms. Així mateix són descrites les altres mesures metabòliques aplicades en aquest estudi (activitat respiratòria, reducció de INT-formazan per la cadena de transport d'electrons, ETS, i activitat fotosintètica, incorporació de  $H^{14}CO_3$ ) així com la densitat i biomassa algals (comptatge de cèl.lules, microscopia òptica, extracció de clorofil.la-a) i bacterianes (tinció amb DAPI, microscopia de fluorescència) i la mesura dels paràmetres físics i químics del riu.

### **Capítol 3. La Riera Major: un riu Mediterrani forestat**

#### **3.1. Paper del biofilm epilític i epipsàmmic en la utilització de la matèria orgànica.**

La sorra i les pedres són els dos substrats que poden ser colonitzats per microorganismes a la Riera Major. El paper dels biofilms epilítics (desenvolupats sobre petits totxets de ceràmica com a substrats artificials) i epipsàmmsics (desenvolupats a la sorra, distingint la sorra del mig del riu de la sorra del litoral del riu) en la degradació de matèria orgànica va ser avaluada durant un cicle anual (1994-95). Els dos tipus de biofilms mostraren diferències estructural i funcionals. Les algues eren ben desenvolupades en els totxets al contrari que a la sorra. La comunitat bacteriana epilítica era més diversa, amb una biomassa i biovolum més elevats. Només l'epipsàmmon mostrà clares variacions estacionals en la biomassa i el metabolisme heterotròfic. Les activitats  $\beta$ -glucosidasa i  $\beta$ -xilosidasa van ser més elevades a la sorra que als totxets, indicant que la degradació de molècules cel.lulòsiques i hemicel.lulòsiques és més important a l'epipsàmmon. Dos mecanismes diferents es suggereixen com a reguladors de les activitats ectoenzimàtiques: l'acumulació de matèria orgànica a l'epipsàmmon, i l'excreció d'exudats algals a l'epilíton. L'acumulació de matèria orgànica a la sorra podria fer incrementar el metabolisme heterotròfic en aquest hàbitat. La sorra, especialment a la zona del litoral del riu, va mostrar la màxima activitat ectoenzimàtica en considerar les activitats per superfície de riu, i per tant és en aquesta zona on hi ha la màxima capacitat de degradació de macromolècules, en contrast amb la menor capacitat de l'epilíton.

### **3.2. Utilització de la matèria orgànica en el sediment: zona superficial versus zona subsuperficial.**

El metabolisme heterotròfic en el sediment de la Riera Major va ser estudiat després d'unaavinguda que va rentar i homogeneitzar el sediment fins als primers 10-12 cm de profunditat, just abans de la caiguda de fulles, des de l'octubre de 1994 fins a l'agost de 1995. Després d'aquest fet, es van trobar diferències entre el sediment superficial (0-3 cm de profunditat) i el sediment subsuperficial (7-10 cm de profunditat). El sediment superficial mostrava unes activitats enzimàtiques extracel·lulars i activitat respiratòria superiors que el sediment subsuperficial. Aquesta major activitat heterotròfica es relaciona amb la major quantitat i qualitat de matèria orgànica que es va acumular al sediment superficial (major densitat de clorofil·la-a i bacteris). El metabolisme heterotròfic del sediment superficial mostrà una clara variació estacional i es correlacionava amb paràmetres ambientals (cabal, nutrients), en canvi al sediment subsuperficial no es va observar cap patró estacional i les activitats van ser molt constants durant tot el període d'estudi. En conclusió, el sediment subsuperficial mostra una disminució significativa del metabolisme heterotròfic, que és més lent i constant que al sediment superficial.

### **3.3. Efectes de la tala de la vegetació de ribera en les algues i bacteris.**

Els efectes de la tala de la vegetació de ribera (febrer de 1995) en les comunitats d'algues i bacteris de la Riera Major van ser estudiats durant el període de desenvolupament de la cobertura (març-agost 1995). La composició de la comunitat, biomassa, i activitats metabòliques van ser comparades amb dades obtingudes abans de la tala en el mateix tram de riu (capítol 3.1) i amb un tram de riu avall encara forestat. La major irradiància es relaciona amb l'augment de *Cladophora* a la zona talada. La biomassa algal va augmentar fins a unes deu vegades, i la productivitat va ser unes quatre vegades superior que abans de la tala i que a la zona forestada. La comunitat bacteriana va mostrar unes activitats ectoenzimàtiques ( $\beta$ -glucosidasa i  $\beta$ -xilosidasa) superiors a la zona talada que a la zona encara forestada. A més a més, la coincidència entre el màxim de  $\beta$ -glucosidasa i clorofil·la-a suggereix que l'activitat bacteriana va ser incrementada per la major disponibilitat de material algal fresc. Les respostes dels paràmetres ambientals i les comunitats biòtiques indiquen que els canvis que van tenir lloc al riu després de la tala podrien ser controlats per un efecte de "des de baix a dalt" en la cadena tròfica (bottom-up), en el que l'augment d'irradiància seria el principal mecanisme responsable.

## **Capítol 4. La Solana: un riu Mediterrani obert.**

### **4.1. Les taques d'algues estromatolítiques optimitzen la utilització de matèria orgànica.**

El llit del riu de La Solana està constituït per lloses sobre les quals s'hi desenvolupa una gruixuda crosta calcària constituïda per algues i cianobacteris amb una estructura per capes similar a un estromatòlit. Aquesta estructura es caracteritza pel desenvolupament de diferents

taques d'algues que aparèixen segons certs canvis estacionals (cabal, temperatura i llum). L'estromatòlit de La Solana té una gran capacitat d'utilització de matèria orgànica, com va ser indicat per les elevades activitats enzimàtiques extracel·lulars ( $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -xilosidasa, fosfatasa) mesurades a les diferents taques algals estromatolítiques durant un cicle anual (1994-95). D'altra banda, cada taca va mostrar una capacitat particular en la utilització de matèria orgànica donat que es van observar diferències en les capacitats hidrolítiques. A la comunitat de *Zygnema-Spirogyra* l'activitat autotròfica podria ser la responsable de l'augment de l'activitat de la  $\beta$ -glucosidasa a la primavera, mentre que al bloom de diatomees, els polisacàrids alliberats per les algues i el material mucilaginos dels peduncles de les diatomees podria regular les activitats ectoenzimàtiques. L'adaptació de la comunitat de *Rivularia* a les condicions oligotròfiques es mostra per la gran activitat de la fosfatasa, relacionada amb la baixa concentració de fòsfor a l'aigua del riu. Les activitats de la  $\beta$ -glucosidasa i la  $\beta$ -xilosidasa més elevades van ser mesurades a la comunitat mixta (constituïda per la crosta cianobacteriana amb un desenvolupament algal a la prima capa superior molt escàs), indicant que les capes inferiors d'aquest estromatòlit que constitueixen el gruix de la crosta cianobacteriana són altament actives. Aquesta aparició de les diferents taques i la gruixària de l'estromatòlit podrien ser una resposta adaptativa per sobreviure els canvis ambientals dràstics, característics dels rius mediterranis.

#### **4.2. Recuperació del metabolisme del biofilm estromatolític després d'una sequera.**

Els organismes que viuen en rius mediterranis han d'estar adaptats a possibles períodes de sequera. La Solana va quedar totalment sec durant l'estiu de 1994. La recuperació del biofilm estromatolític va ser estudiada en un experiment de laboratori submergint aquest en aigua del riu recirculant. El biofilm estromatolític era bàsicament constituït per cianobacteris (*Rivularia* sp. i *Schizothrix* spp.). Les activitats ectoenzimàtiques ( $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -xilosidasa, i fosfatasa), incorporació de  $H^{14}CO_3$  i activitat respiratòria (ETS), van ser mesurades immediatament després de submergir la crosta cianobacteriana, i cada hora durant cinc hores. L'activitat fotosintètica i respiratòria van mostrar uns valor baixos al començament de l'experiment però van augmentar significativament després de dues hores. La recuperació de les activitats enzimàtiques en canvi, va ser immediata, donat que els valors mesurats a les 0 hores eren similars als valor obtinguts de la crosta cianobacteriana abans de la sequera. Les activitats enzimàtiques van augmentar clarament després de tres hores fins a valors més elevats que els obtinguts abans de la sequera. Totes les activitats es varen estabilitzar tornant als valor inicials al final de l'experiment. Es suggereix que la ràpida recuperació del metabolisme podria ser causat per l'especial estructura de la crosta estromatolítica de La Solana actuant com a reserva de matèria orgànica, així com per la ràpida rehidratació dels embolcalls mucilaginosos dels cianobacteris. Aquest comportament implica que el biofilm pot fins i tot reactivar-se durant períodes de curtes pluges durant els estius secs.

### **Capítol 5. Caracterització de la cinètica ectoenzimàtica en rius mediterranis.**

La cinètica enzimàtica va ser analitzada en els biofilms de la Riera Major (epilític i episàmmic) i de La Solana (crosta cianobacteriana) durant les quatre estacions de l'any 1995. Les  $V_{max}$  (velocitats màximes),  $K_m$  (constants aparents de Michaelis) i el  $T_t$  (temps de renovació de la hidròlisi del substrat) van ser obtingudes per les activitats de la  $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -xylosidasa i fosfatasa per l'aproximació cinètica de Michaelis-Menten. Les  $V_{max}$  eren sempre superiors per la crosta cianobacteriana de La Solana que pels biofilms epipsàmmic i epilític de Riera Major. Les  $K_m$  eren dins el mateix rang indicant que l'afinitat i per tant la disponibilitat de substrat és similar en els dos rius possiblement per la similitud en el tamany (rius de segon ordre), en el contingut de carboni orgànic dissolt a l'aigua, i condicions ambientals similars. D'altra banda, el  $T_t$  era molt més baix a La Solana que en els biofilms epipsàmmic i epilític de Riera Major. Aquest ràpid reciclatge a La Solana es relaciona amb la disponibilitat de substrats més làbils pels heteròtrofs (compostos orgànics del productors primaris), mentre que el  $T_t$  més lent de Riera Major podria ser el resultat de l'entrada de material més recalcitrant (fulles provinents de la vegetació de ribera).

### **Capítol 6. Dinàmica temporal de l'activitat ectoenzimàtica epilítica al riu Ter.**

Les activitats ectoenzimàtiques del biofilm epilític en el riu Ter (4rt ordre) van seguir un patró estacional molt clar. La majoria de les activitats i biomasses mostraren un pic a la primavera i a la tardor. El cabal i els nutrients varen ser els factors més importants per la regulació del metabolisme del biofilm. Les activitats dels ectoenzims epilítics van ser elevades durant els períodes de cabal elevat lligats també a períodes amb continguts elevats de DOC (carboni orgànic dissolt) a l'aigua. El biofilm era caracteritzat per una elevada biomassa i activitat algals i densitat bacteriana. Aquest és probablement l'hàbitat més important pel reciclatge de la matèria orgànica mentre la columna d'aigua va mostrar activitats bastant baixes. Malgrat ser un riu ric en nutrients, les activitats ectoenzimàtiques no eren significativament superiors al riu Ter que en altres rius amb un contingut de nutrients molt menor (com Riera Major i La Solana).

### **Capítol 7. Activitats ectoenzimàtiques als biofilms epilítics del Breitenbach, un riu centreeuropeu de primer ordre.**

Les activitats dels enzims extracel·lulars  $\beta$ -glucosidasa,  $\beta$ -xilosidasa, fosfatasa i aminopeptidasa van ser mesurades als biofilms epilítics (amb la utilització dels totxets de ceràmica com a substrats artificials) del Breitenbach. Els valors de  $V_{max}$  pels quatre enzims varen ser superiors en els biofilms del punt obert i amb més velocitat del corrent (punt A), que en el punt també obert però amb menor velocitat del corrent (punt B) i que al punt cobert per la vegetació de ribera (punt C). La major biomassa algal que es va acumular al punt A



probablement proveïa d'una major disponibilitat de substrat incrementant la capacitat hidrolítica dels heteròtrofs. Al punt C l'elevada capacitat de degradar polisacàrids podria ser resultat de l'entrada important de fulles durant el període d'estudi (octubre-novembre de 1995). Com a mitjana, el temps de renovació de la hidròlisi de substrat (Tt) pels quatre enzims era de major a menor: 80 hores ( $\beta$ -xilosidasa, 19 hores (fosfatasa), 17 hores ( $\beta$ -glucosidasa), i 5 hores (aminopeptidasa) expressant que el reciclatge dels compostos hemicel·lulòsics és molt lent i contrastat amb la ràpida utilització dels compostos proteïnics. El Tt per l'activitat fosfatasa era més elevat que el que havia estat mesurat pels rius mediterranis (capítol 5).

## **Capítol 8. Relacions entre algues i bacteris.**

### **8.1. Canvis metabòlics associats amb la formació del biofilm.**

L'activitat respiratòria (ETS), activitat ectoenzimàtica ( $\beta$ -glucosidasa i  $\beta$ -xilosidasa) i activitat fotosintètica (incorporació de  $H^{14}CO_3$ ) en el biofilm va ser mesurada a Riera Major durant una seqüència de colonització (43 dies) sobre els substrats artificials (totxets de ceràmica) i comparats amb totxets ja totalment colonitzats. Durant els primers cinc dies les densitats bacterianes i activitats ectoenzimàtiques van mostrar un increment molt marcat. Després de dues setmanes, la densitat algal, clorofil·la-a i productivitat van augmentar de forma més moderada. La clorofil·la-a no va arribar a valors similars als dels biofilms totalment colonitzats fins l'últim dia de la colonització. L'activitat fotosintètica podria ser relevant pel metabolisme dels heteròtrofs com es dedueix per la correlació significativa entre  $\beta$ -glucosidasa i incorporació de  $H^{14}CO_3$ , densitat de cèl·lules algals i clorofil·la-a. L'activitat respiratòria (ETS) va disminuir en els biofilms més "vells", juntament amb una major densitat bacteriana i algal. Els biofilms joves (fins a 8 dies) mostraren activitats de l'ETS per cèl·lula més elvades, indicant en aquest cas que hi va haver una resposta ràpida per part dels microorganismes a la disponibilitat de substrat.

### **8.2. Efecte dels productors primaris en el metabolisme heterotròfic del biofilm.**

La biomassa (clorofil·la-a) i metabolisme (incorporació de  $H^{14}CO_3$ ) algals correlacionaren significativament amb el metabolisme heterotròfic (activitats ectoenzimàtiques) en biofilms del riu. Les rectes de regressió obtingudes utilitzant biofilms formats en condicions de foscor i biofilms formats en condicions de llum suggereixen que la resposta dels heteròtrofs és més ràpida en biofilms amb una biomassa algal menor i és més lenta i atenuada quan augmenta la biomassa de les algues. En biofilms formats en condicions de llum el pendent de les rectes de regressió era més pronunciat per l'activitat  $\beta$ -glucosidasa que per la  $\beta$ -xilosidasa. A més a més, l'activitat de la  $\beta$ -glucosidasa per cèl·lula era superior en els biofilms formats a la llum. Aquestes observacions indiquen la preferència per part dels heteròtrofs de la utilització de productes relacionats amb les algues (polisacàrids cel·lobiòsics), quan aquests són disponibles, que altres productes al·lòctons (polisacàrids xilobiòsics). Això es confirma pels pendents

similars entre les regressions obtingudes amb la  $\beta$ -glucosidasa i la  $\beta$ -xilosidasa pels biofilms formats en condicions de foscor.

**Capítol 9. Activitats ectoenzimàtiques en rius mediterranis: tendències generals i relació amb el quocient biomassa bacteriana/ biomassa algal.**

Les dades conjuntes dels estudis estacionals de les activitats ectoenzimàtics en biofilms portats a terme en rius mediterranis van permetre investigar l'existència d'un comportament general per aquestes activitats. Es van utilitzar diferents anàlisis estadístiques de les dades (Components Principals, Correlacions Canòniques). D'entre els paràmetres físico-químics, la conductivitat i el DIC (carboni inorgànic dissolt) són els principals responsables de la variabilitat dels ectoenzims, mentre que la densitat de clorofil·la-a del biofilm és el paràmetre biològic més relevant. La  $\beta$ -xilosidasa apareix més relacionada amb la matèria orgànica al·lòctona que autòctona. Les activitats elevades de la fosfatasa es troben juntament amb valors baixos de fósfor inorgànic (SRP, fósfor reactiu soluble) a l'aigua. Les activitats ectoenzimàtiques mesurades en rius mediterranis són superiors que les mesurades en rius europeus. D'altra banda, el quocient entre les activitats  $\beta$ -xilosidasa: $\beta$ -glucosidasa és similar pels rius de les diferents regions considerats, essent en promig 0.5.

Es va trobar una relació negativa entre les activitats ectoenzimàtiques i el quocient biomassa bacteriana/ biomassa algal dels biofilms dels rius estudiats i també d'alguns rius europeus, indicant la importància de les algues pels heteròtrofs. Es conclou que els autòtrofs juguen un paper més relevant com a font de matèria orgànica pels heteròtrofs i, per tant, pel reciclatge del carboni, que el que generalment ha estat presuposat pels biofilms dels rius.

## **CONCLUSIONS**



## Conclusions

### **1. Diferències entre l'epilítton i l'epipsàmmon de Riera Major en la utilització de matèria orgànica.**

- La utilització dels substrats artificials (totxets de ceràmica) després d'un període de colonització al riu de 6 a 8 setmanes permet estudiar el metabolisme de l'epilítton.
- La capacitat de degradar polisacàrids és superior a l'epipsàmmon que a l'epilítton.
- L'activitat heterotròfica a l'epilítton és regulada per l'activitat algal mentre a l'epipsàmmon és més important l'acumulació de matèria orgànica al·lòctona.
- Considerant la superfície d'un tram del riu on els diferents substrats hi són representats, la major capacitat de degradació de material tindria lloc al sediment de la zona litoral.

### **2. Diferències entre el sediment superficial i subsuperficial de Riera Major.**

- Al sediment superficial (0-3 cm de profunditat) hi ha una activitat heterotròfica superior que al sediment subsuperficial (7-10 cm de profunditat).
- Al sediment superficial s'acumula una major quantitat (matèria orgànica, biomassa) i qualitat (més material algal fresc) de material que al sediment subsuperficial.
- El metabolisme heterotròfic al sediment superficial està lligat als canvis estacionals (variacions de cabal i nutrients) mentre que al sediment subsuperficial no s'observen canvis estacionals.

### **3. Efectes de la tala sobre les algues i bacteris a Riera Major.**

- L'augment d'irradiància després de la tala i durant el període de primavera-estiu és el factor desencadenant dels canvis en les comunitats bentòniques.
- Hi ha un gran augment de la biomassa algal (*Cladophora*) en comparació amb la zona encara forestada i les dades de l'any anterior.
- S'observa un pic de les activitats  $\beta$ -glucosidasa i  $\beta$ -xilosidasa juntament amb un pic de la clorofil·la, hi ha per tan una utilització de material algal per part dels heteròtrofs.

### **4. Les taques estromatolítiques de La Solana optimitzen la utilització de matèria orgànica.**

- L'estructura estromatolítica té una gran capacitat d'utilització de matèria orgànica.
- Cada taca en l'estromatòlit té unes activitats ectoenzimàtiques diferents, aprofitant diferents fonts de matèria orgànica.
- Aquestes dues característiques anteriors podrien ser una resposta adaptativa per a sobreviure els canvis dràstics característics dels rius Mediterranis.

### **5. Recuperació (rehidratació) de l'estromatòlit de La Solana després d'un període de sequera.**

- Les activitats respiratòria i fotosintètica es comencen a recuperar al cap de dues hores però a les cinc hores encara no estan totalment recuperades.
- Les activitats ectoenzimàtiques es recuperen immediatament.
- L'estructura de la crosta de La Solana i la seva composició (bàsicament cianobacteris) confereix a aquest estromatòlit d'una capacitat per rehidratar-se i recuperar-se ràpidament després d'un període de sequera llarg (un mes).

### **6. Cinètica enzimàtica a Riera Major i La Solana.**

- Les velocitats màximes de les activitats ectoenzimàtiques són superiors a La Solana que a Riera Major.
- La disponibilitat de substrats pels enzims és similar a La Solana i Riera Major.
- El temps de renovació pels ectoenzims estudiats és més ràpid a La Solana que a La Riera Major; hi ha una utilització de material més làbil a La Solana (material algal) i més recalcitrant a Riera Major (material al·locton).
- El temps de renovació dels compostos hemiacetals és molt més lent que el dels ésters de fosfat.
- El temps de renovació (i per tan el reciclatge de matèria orgànica) en aquests rius Mediterranis és molt més ràpid que el que s'observa en sistemes planctònics.

### **7. Variació estacional de l'activitat ectoenzimàtica al riu Ter.**

- L'epilítion del riu Ter té una biomassa elevada i les seves activitats ectoenzimàtiques són molt més importants que a la columna d'aigua.
- El metabolisme heterotròfic i autotròfic de l'epilítion del riu Ter segueix un patró estacional amb dos màxims, a la primavera i a la tardor.
- Els períodes de màxima activitat coincideixen amb períodes de cabal elevat i concentració de DOC elevada.
- Les activitats ectoenzimàtiques al riu Ter, malgrat ser ric en nutrients, són similars a les de Riera Major i La Solana.

### **8. Activitats ectoenzimàtiques al Breitenbach.**

- Els substrats artificials (totxets de ceràmica), al cap de 2 mesos de colonització, representen la comunitat bacteriana i algal del riu.
- El biofilm epilític del punt amb més llum i velocitat del corrent té una major biomassa algal i activitats ectoenzimàtiques.
- El biofilm epilític del punt forestat de una activitat polisacàridica elevada.

- El temps de renovació per la degradació de compostos proteics és molt més ràpid que pels polisacàrids.
- El temps de renovació d'èsters de fosfat és més lent que el que s'observa en rius mediterranis.

#### **9. Canvis metabòlics associats amb la formació del biofilm.**

- Els bacteris colonitzen els substrats artificials més aviat i més ràpid (quatre-cinc dies) que les algues (deu-quinze dies).
- Els bacteris utilitzen material algal durant el procés de colonització.
- L'activitat respiratòria per cèl.lula i per tan l'eficiència en la utilització de la matèria orgànica és superior durant els primers dies de la colonització (fins al vuitè dia).

#### **10. Efecte dels productors primaris en el metabolisme heterotròfic del biofilm.**

- El material algal és utilitzat pels heteròtrofs com a font de matèria orgànica.
- L'acumulació d'algues al biofilm enlenteix la resposta dels microorganismes a la seva utilització. Els biofilms més pobres de material autòcton tenen una resposta més ràpida.
- Els heteròtrofs prefereixen utilitzar materials cel·lobiosics (material algal) que xilobiosics (material al·lòcton) quan aquests són disponibles.

#### **11. Activitats ectoenzimàtiques en rius mediterranis: tendències generals i relació amb el quocient biomassa bacteriana/ biomassa algal.**

- La conductivitat i el DIC són els paràmetres físico-químics més importants com a reguladors de les activitats ectoenzimàtiques en rius mediterranis.
- El contingut de clorofil·la del biofilm és el paràmetre biològic més important com a regulador de les activitats ectoenzimàtiques en rius mediterranis.
- El quocient entre les activitats  $\beta$ -xilosidasa/ $\beta$ -glucosidasa té un valor força constant de 0.5 en els diferents rius i augmenta quan l'entrada de material al·lòcton és important.
- L'activitat fosfatasa es relaciona amb les concentracions baixes de fòsfor inorgànic al riu.
- Les activitats ectoenzimàtiques en rius mediterrans són superiors que a alguns rius del nord d'Europa.
- Les activitats ectoenzimàtiques es relacionen negativament amb el quocient entre biomassa bacteriana/ biomassa algal del biofilm posant de manifest la importància de la biomassa algal com a reguladora de les activitats ectoenzimàtiques.











