

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

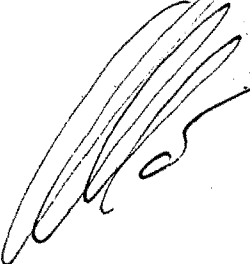
**Institut d'Ecologia Aquàtica
Estudi General de Girona**

***BACTERIS FOTOTRÒFICS I
CICLE DEL FERRO A
L'ESTANY DE BANYOLES***

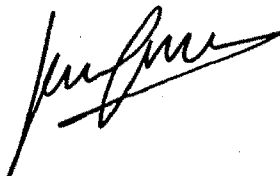
Memòria redactada per a optar al
Grau de Doctor en Ciències, Secció
Biològiques, per la Universitat
Autònoma de Barcelona, per

Jesús Garcia i Gil

Vist-i-plau,
El Director de la Tesi



Dr. Carles Abellà i Ametller
Professor Titular de Microbiologia



Girona, juny de 1990

**Als pares per quasi tot...
i la Sussi, per la resta.**

CONTINGUT

RESUM/ABSTRACT

AGRAÏMENTS

1. INTRODUCCIÓ	1
2. MATERIALS I MÈTODES	9
2.1. Zona d'estudi	11
2.2. Batimetria i mostreig	11
2.2.1. Paràmetres morfomètrics	11
2.2.2. Mostreig	14
2.3. Paràmetres físics	15
2.3.1. Temperatura i conductivitat	15
2.3.2. Densitat	15
2.3.3. Penetració de la llum	16
2.3.4. Terbolesa	17
2.4. Paràmetres químics	17
2.4.1. pH	17
2.4.2. Potencial redox	17
2.4.3. Oxigen dissolt	17
2.4.4. Sulfhídric	20
2.4.5. Anàlisi del ferro	20
2.5. Paràmetres bioquímics	24
2.5.1. Anàlisi qualitativa i quantitativa de pigments	24
2.5.2. Paràmetres cinètics	28
2.5.3. Determinació del sofre elemental	28
2.6. Determinació de sucres totals	29
2.7. Microscòpia	29
2.7.1. Microscòpia òptica	29
2.7.2. Microscòpia electrònica	31
2.8. Mètodes estadístics	31
2.9. Determinació del FeS amb electrode selectiu	32
2.10. Mesura de l'alliberament de Fe ²⁺ des del sediment	34
2.11. Purificació i aïllament dels bacteris fototròfics del sofre	34
2.11.1. Enriquiment	34
2.11.2. Aïllament	37
2.11.3. Identificació	37
2.12. Cultiu dels bacteris fototròfics del sofre	37
2.13. Creixement dels bacteris fototròfics del sofre amb FeS	41

3. ESTUDI LIMNOLÒGIC DE LES CUBETES C-III, C-IV i C-VI	43
3.1. Introducció	45
3.2. Resultats	47
3.2.1. Paràmetres meteorològics	47
3.2.2. Batimetria	50
3.2.3. Paràmetres físico-químics	56
3.2.3.1. Llum	56
3.2.3.2. Temperatura	56
3.2.3.3. Conductivitat	60
3.2.3.4. Densitat	63
3.2.3.5. pH	66
3.2.3.6. Potencial redox	67
3.2.3.7. Oxigen	67
3.2.3.8. Nitrats	70
3.2.3.9. Nitrits	71
3.2.3.10. Amoni	71
3.2.3.11. Ferro soluble (Fe^{2+})	77
3.2.3.12. Sulfhídric	77
3.2.3.13. Clorofil·la a	80
3.3. Discussió	83
3.3.1. Estabilitat de la meromixi	83
3.3.2. Períodes del cicle limnològic anual de l'estany de Banyoles	88
4. DINÀMICA POBLACIONAL COMPARADA DELS BACTERIS FOTOTRÒFICS	101
4.1. Introducció	103
4.2. Resultats	105
4.2.1. Bacteris fototròfics identificats	105
4.2.2. Dinàmica poblacional comparada dels bacteris fototròfics del sofre a C-III, C-IV i C-VI	108
4.2.2.1. Cubeta III	108
4.2.2.2. Cubeta IV	112
4.2.2.3. Cubeta VI	116
4.2.3. Distribució horitzontal dels bacteris fototròfics del sofre	120
4.3. Discussió	125
4.3.1. Factors determinants de l'aparició i desenvolupament de les comunitats de bacteris fototròfics	125
4.3.2. Distribució horitzontal dels bacteris fototròfics del sofre	135

5. EL CICLE DEL FERRO A L'ESTANY DE BANYOLES	139
5.1. Introducció	141
5.2. Resultats	143
5.2.1. El ferro al sediment compacte	143
5.2.2. El ferro al sediment en suspensió	147
5.2.3. Cinètica d'alliberament del ferro a la columna d'aigua	158
5.3. Discussió	164
5.3.1. Origen del ferro a C-IV	164
5.3.2. El ferro al sediment compacte	168
5.3.3. Alliberament de Fe ²⁺ des del sediment	171
5.3.4. Interaccions sediment-aigua	173
5.3.5. Entrada de ferro per les surgències	175
5.3.6. Interaccions entre els cicles del sofre i del ferro	178
5.3.7. Matèria orgànica i cicle del ferro	178
5.3.8. Comparació entre els cicles del ferro de C-III, C-IV i C-VI	181
5.3.9. Model de funcionament del cicle del ferro	183
5.3.9.1. Model matemàtic	183
5.3.9.2. Predicció de les concentracions màximes de Fe ²⁺ a C-IV	193
5.3.9.3. C-IV com a model químic dinàmic d'alternança dels cicles del ferro i del sofre	196
6. ECOFISIOLOGIA DE LES CLOROBÌACIES EN AMBIENTS FERROSOS	199
6.1. Introducció	201
6.2. Resultats	203
6.2.1. Les poblacions de bacteris fototròfics del sofre i el cicle del ferro	203
6.2.2. Estudi de la unió del ferro als bacteris	209
6.2.3. Les Clorobíacies en ambients ferrosos	212
6.2.3.1. Utilització del Fe ²⁺	216
6.2.3.2. Utilització del FeS	216
6.2.3.3. FeS i fotosíntesi	219
6.2.3.4. Unió del ferro a les cèl·lules	225
6.2.3.5. Corba d'adsorció del Fe ²⁺	231
6.2.3.6. Cinètica d'utilització de S ²⁻ /FeS	231
6.2.3.7. Metabolisme de les Clorobíacies a les fosques	235

6.3. Discussió	241
6.3.1. Distribució conjunta de ferro i Clorobiàcies a la columna d'aigua	241
6.3.2. Unió del ferro a les cèl.lules	243
6.3.3. La unió del ferro com a estratègia ecològica i fisiològica de les Clorobiàcies	244
7. CONCLUSIONS	251
8. BIBLIOGRAFIA	259
ANNEXES	275

RESUM

Es presenten un seguit de treballs que tenen com objectiu final estudiar el cicle del ferro a l'Estany de Banyoles, i la incidència que pot tenir sobre el desenvolupament dels bacteris fototròfics del sofre. Inicialment, l'estudi compara el cicle limnològic de tres cubetes situades a l'anomenat lòbul Nord de l'Estany de Banyoles (C-III, C-IV i C-VI). Les diferències que es troben entre elles radiquen fonamentalment en el comportament de l'estratificació (C-III i C-IV són meromíctiques presentant diferents graus d'estabilitat i C-VI és holomíctica) i expliquen la dinàmica de les poblacions de bacteris fototròfics que creixen a cada una d'elles.

L'estudi es centra especialment en el cicle del ferro el qual és rellevant a C-IV durant una bona part del cicle anual. Posteriorment es descriu la dinàmica de les poblacions de bacteris fototròfics del sofre a les tres cubetes, per acabar aprofundint en les possibles relacions entre aquests bacteris i el ferro.

El ferro soluble (Fe^{2+}) es distribueix pel monimolimnion de C-IV durant tota la primavera i part de l'estiu, assolint concentracions màximes de $70 \mu\text{M}$. L'acumulació de ferro es produeix per dues vies. Una és l'alliberament de ferro des del sediment per reducció del ferro oxidat durant l'hivern i present a la part superior d'aquest sediment. L'altra via és l'entrada de Fe^{2+} per les surgències del fons, especialment S₄ havent-se mesurat velocitats d'entrada de $1350 \text{ mmol Fe}^{2+} \cdot \text{h}^{-1}$, quantitat que correspon aproximadament al 40 % del total acumulat durant aquesta època. L'alliberament de ferro des del sediment però és limitat en el temps, mentre que l'entrada de Fe^{2+} per les surgències és contínua durant tot el cicle anual. El ferro és posteriorment eliminat de l'aigua per la producció de sulfhídric del sediment i la formació de FeS , el qual pot trobar-se en diferents formes i solubilitats. S'han calculat valors de $-\log pK_s$ per al FeS que oscilen entre 2 i 4, corresponents al FeS amorf ("mackinawita"). Aquests valors augmentaven a mida que avançava l'estiu. Per tant, C-IV experimenta una alternança entre els cicles del ferro i del sofre, els quals interaccionen químicament. Aquesta interacció finalitza amb la desaparició del Fe^{2+} de la columna d'aigua. Tant l'acumulació de ferro al monimolimnion, com la posterior desaparició (precipitació en forma de FeS) han estat monitoritzats al llarg dels anys 1988 i 1989, havent arribat a la confecció d'un model cinètic que descriu matemàticament aquesta dinàmica.

El creixement de les comunitats de bacteris fototròfics del sofre a les cubetes estudiades estava fortament limitat per la quantitat de llum que arri-

bava al punt on es desenvolupaven. Tant les Cromatiàcies com les Clorobiàcies mostren adaptacions similars a la manca de llum augmentant la proporció carotenoides/bacterioclorofil·la. D'altra banda la dinàmica d'estratificació pròpia de cada cubeta situava el gradient oxigen/sulfhídric a una fondària diferent a cada una d'elles, determinant el moment i la quantitat amb els que aquests bacteris podien trobar-se però no les espècies que componien les comunitats. S'han aïllat i identificat les següents espècies: *Chromatium minus*, *Chlorobium limicola* i *Chlorobium phaeobacteroides*. *C. limicola* només es va poder aïllar de C-VI mentres que les altres dues són comunes a les tres cubetes.

Dos aspectes destacables que tenen a veure a la vegada amb el cicle del ferro i els bacteris fototròfics del sofre a C-IV són:

1. una densa població de *Chlorobium phaeobacteroides* creixent en un ambient ferrós amb sulfhídric pràcticament indetectable
2. la similitud entre les distribucions de Fe^{2+} i *Chlorobium phaeobacteroides*, amb màxims coincidint en el temps i l'espai.

Aquestes observacions suggereixen l'existència d'una relació ecològica i fisiològica entre el ferro i els bacteris fototròfics que pot ser interpretada en termes d'adaptació d'aquests microorganismes a condicions de concentració de sulfhídric extremadament baixes. Al laboratori, el Fe^{2+} s'uneix passivament a *Chlorobium phaeobacteroides* el qual pot adsorbir fins a $1 \mu g$ de Fe^{2+} / μg Bclor e. Cultius purs, tant d'aquest microorganisme com de *Chlorobium limicola*, incubats amb medi "Pfennig" amb l'equivalent a 0.5 mM de FeS ($44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) i en condicions saturants de llum, oxiden fotosintèticament el FeS a sofre elemental i Fe^{2+} lliure. Les Cromatiàcies en canvi no mostraven aquesta facultat. Els resultats d'aquests experiments ajuden a interpretar les observacions remarcades anteriorment, com una estratègia d'adaptació a condicions que es poden considerar poc favorables i que els conferiria avantatge selectiu en front a altres grups.

ABSTRACT

A series of investigations that study the iron cycle in Banyoles lake, as well as its incidence on the development of phototrophic sulfur bacteria, is presented. First, three basins located at the North area of Banyoles Lake (C-III, C-IV and C-VI) are compared. The differences found among them, are mainly in the differential behavior of the stratification (C-III and C-VI are meromictic with different degrees of stability, whereas C-IV is holomictic), and explain the dynamics of phototrophic sulfur bacteria at each basin. A more detailed focus is made on the iron cycle in C-IV during a extended period of time. Afterwards, the dynamics of phototrophic bacteria populations growing in this basin is described on the basis of their apparent relationship to iron.

Soluble iron (Fe^{2+}) can be found in the monimolimnion of C-IV during the whole spring and early summer, reaching maximal concentrations up to $70 \mu M$. It accumulates by two ways. One is the release of Fe^{2+} from the sediment. The other is the inflow from the bottom springs, particularly S_4 , which carries Fe^{2+} up at a measured rate of $1350 \text{ mmol } Fe^{2+} \cdot h^{-1}$, contributing roughly 40 % of the total accumulated Fe^{2+} . However, the release of soluble iron from sediment is temporal (spring and early summer), while iron enters C-IV from the bottom springs all year long. Once sulfide production in sediment begins to be significant, iron is removed from the solution in the form of FeS, decreasing its concentration drastically. This compound has been found as amorphous FeS (mackinawite), with calculated values for $-\log pK_s$ ranging from 2 to 4. In summary, C-IV shows an alternation of both the iron and sulfur cycles, which chemically interact resulting in the precipitation of Fe^{2+} in the form of FeS. Both the accumulation of Fe^{2+} and its removal have been monitored during 1988 and 1989, and a kinetic model mathematically describing the behavior of iron has been developed.

The growth of phototrophic bacteria communities in the studied basins was strongly limited by the quantity of available light at the depth where they were found. Both Chlorobiaceae and Chromatiaceae show similar adaptations to light limiting conditions, increasing their carotenoid /bacteriochlorophyll ratio. On the other hand, the depth of the oxic/anoxic boundary was different at each basin depending on the stratification dynamics. This fact has a strong affect on both the quantity and time of appearance of phototrophic bacteria, but does not influence the relative composition of such communities. The following species have been isolated from Banyoles Lake: *Chromatium minus*, *Chlorobium limicola* and *Chlorobium phaeobacteroides*. *C. limicola* could only be isolated from C-VI,

while the other two species are commonly found in each of the tree studied basins.

Two remarkable aspects dealing both with the iron cycle and sulfur phototrophic bacteria in C-IV are:

1. A dense population of *Chlorobium phaeobacteroides* growing in a ferrous environment, in which sulfide was almost undetectable
2. The similar pattern of distribution of Fe^{2+} and *Chlorobium phaeobacteroides*, showing peaks that coincide in space and time.

These observations suggest an ecological and physiological relationship between iron and those microorganisms, that can be interpreted as a mechanism of adaptation to conditions of extremely low sulfide concentrations. Under laboratory conditions, Fe^{2+} is passively adsorbed by *Chlorobium phaeobacteroides*, in quantities up to $1 \mu\text{g}$ of $Fe^{2+}/\mu\text{g}$ Bchlor e. Pure cultures of *C. phaeobacteroides* and *C. limicola*, incubated with "Pfennig" medium containing $44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of FeS (the equivalent to 0.5 mM of Fe^{2+} and 0.5 mM of S^{2-}), oxidized this compound photosynthetically to elemental sulfur and ferrous iron. Chromatiaceae did not show this ability. The results of these experiments support the hypothesis of an adaptation of Chlorobiaceae to adverse environmental conditions, providing a better understanding of the above mentioned observations.

Agraïments

Aquest treball ha estat possible gràcies a la contínua i abnegada col.laboració d'una bona colla de gent que no ha dubtat en aportar el seu granet de sorra en el precís moment en què era necessari. Per això, no voldria resistir la tentació d'expressar, de forma breu però sinzera, el meu profund reconeixement a tots ells.

En primer lloc al Dr. Carles Abellà, qui ha estat un Mestre des de força abans de començar a treballar sota la seva direcció, per saber quan i com estimular-me durant tot aquest temps i per la seva bona disposició i suport davant totes les iniciatives preses durant els treballs.

Al Dr. Emili Montesinos, per aplicar la seva extraordinària claretat d'idees (gairebé cartesiana) davant d'alguns dels problemes científics que anaven surgint i per introduir-me al fascinant món dels models matemàtics aplicats a la Microbiologia.

Als companys de Laboratori, Ramón Brunet pel seu companyerisme especialment durant els dos primers anys (els més difícils per tot hom) i pels seus temps i ajut en la discussió dels resultats en diferents fases del treball i Xavier Riera pels seus comentaris sobre els resultats durant el temps que varem compartir.

Vull manifestar, aiximateix, el meu agraïment al nombrós grup de col.laboradors que, en diferents etapes, no han dubtat en acompanyar-me en les dures tasques de camp, remar quan el motor no funcionava, ajudar a fer més suportables les tedioses sessions d'anàlisis químiques i filtracions després d'una aspre jornada de mostreig, i tantes d'altres. També han aguantat estoicament les inclemències meteorològiques (especialment el fotut vent) així com aquesta punta de mal geni que m'agafa quan les coses no rutllen com caldria. Gràcies a Jordi Figueres àlies "Figures", Carles Borrego "Bo", Lluís Hugas "Fugues", Lluís Banyeres "Catxo", Xavi Vila "Fitolimnos", Miquel Coma "Magic", i, molt especialment a en Lluís Sala Genóher "Salta", que ha compartit, apart de les tasques de camp, les il.lusions i les decepcions del treball de laboratori amb la Fisiologia de *Chlorobium* (en secret, encara pensem que el Fe^{2+} pot donar electrons per la fotosíntesi). Gràcies "pardillos".

També voldria expressar la meua gratitud a la Direcció del Centre on s'ha portat a terme aquest treball (Col·legi Universitari de Girona quan vaig començar, Estudi General de Girona a l'actualitat i futura Universitat de Girona) per la seva confiança i suport en tot moment.

Finalment, agrair sincerament als companys de l'Institut d'Ecologia Aquàtica, biòlegs, geòlegs, físics i químics el seu inestimable ajut. Especialment el Dr. Ramon Moreno, que va assessorar-me en les qüestions estadístiques, (ho sento però encara penso que per aplicar correctament l'estadística a les dades d'aquest treball caldria tenir un duplicat de l'Estany). Gràcies a ell vaig adonar-me que l'Estadística és una eina molt útil (si s'utilitza bé) i no una finalitat impossible. El Dr. Sergi Bonet sempre s'ha mostrat diligent a l'hora d'ajudar en tot allò relacionat amb les tècniques de microscòpia i els interminables protocols.

La Imma Pibernat m'ha solucionat moltes qüestions burocràtiques que se m'entravessaven, i ha ajudat a revisar les cites bibliogràfiques.

Els doctors Xavier Ribas i Victòria Salvador i els seus companys de la Secció de Química em varen posar al dia en la química del ferro, tant complexe pels químics analítics i tant senzilla pels limnòlegs.

En Joan Fontcoberta sempre m'ha ajudat en tots els problemes que anaven surgint en relació amb els ordinadors (VAX i PCs) més enllà, si era necessari del seu horari de treball.

La Maria Rieradevall m'ha proporcionat informació valuosa sobre la composició del sediment de l'Estany.

A la gent de casa, per la seva paciència, per estar sempre al meu costat i confiar en mi en els moments crítics i per ser els únics que no preguntaven allò dequan llegeixes?

I finalment a la Sussi, per la seva comprensió i companyia en tot moment

1.

Introducció

L'estudi dels microorganismes en el seu ambient és un dels objectius (i dels reptes) que es planteja l'ecologia microbiana com a disciplina científica. La intensa activitat biològica que porten a terme les poblacions bacterianes als seus ecosistemes, sovint produeix canvis espectaculars en les condicions dels mateixos. La conseqüència més comuna és que aquestes noves condicions afavoreixin l'establiment d'una altra població que substituirà a l'anterior, afavorida per les "noves" característiques de l'ambient. Aquest és un procés successiu que en ocasions presenta naturalesa cíclica. Les poblacions bacterianes i les característiques dels seus ambients són doncs elements que varien imbricadament, influïnt-se mútuament. A més, aquests canvis es produeixen a escales temporals relativament curtes que li donen una dinàmica molt més activa comparada amb l'evolució d'altres macroecosistemes com poden ser els terrestres. Així doncs, l'estudi tant del nínxol ecològic que determina una població bacteriana en el seu microambient com de l'activitat fisiològica de l'esmentada població ha de ser una tasca inel·ludible per a qualsevol ecòleg microbià.

L'existència d'aparells de mesura cada vegada més perfeccionats ens permet descriure simultàniament i amb fidelitat la situació, a diferents punts del espai, d'un bon joc de variables en un moment donat. D'altra banda l'evolució d'aquestes variables al llarg del temps ens ha de facilitar les pautes de canvi que governen un ecosistema determinat. Aquests canvis poden ésser descrits en termes de cinètica com a resultat de l'acció bacteriana.

Les poblacions bacterianes que componen un ecosistema microbià solen estar compostes per diferents espècies, si bé la diversitat biològica és sensiblement inferior a la que es pugui trobar en qualsevol macroecosistema terrestre. Els microorganismes ofereixen la possibilitat de ser purificats, aïllats i cultivats separadament uns dels altres. Això és una conseqüència de les característiques bioquímiques diferencials que les caracteritza i el seu estudi per separat ens és sumament útil per assajar les característiques fisiològiques de cada grup microbià en concret.

Així doncs, cal un estudi combinat entre el camp i el laboratori per tal d'arribar a comprendre el funcionament d'un ecosistema microbià. Sovint hi han treballs que paren excessiva atenció a la descripció físico-química del medi incidint poc en els treballs experimentals de laboratori. El descuit del treball de laboratori fa que les poblacions microbianes i les seves respectives activitats siguin tractades com una caixa negra amb la subseqüent pèrdua

d'informació respecte a la biologia del sistema. I no hem d'oblidar que som primordialment biòlegs. D'altra banda, es pot caure en l'error de donar massa importància als treballs de laboratori, deixant de banda el coneixement del que passa al camp, per perdre's en un laberint d'experiments que desembocaran en un excel·lent treball de fisiologia però mai d'ecologia microbiana. De l'equilibri a l'hora de distribuïr els esforços entre el camp i el laboratori pot dependre una bona comprensió del microorganisme en el seu ambient.

El present treball combina la Limnologia amb l'Ecofisiologia dels bacteris fototròfics del sofre i té, per tant, un doble objectiu. En primer lloc l'estudi des d'un punt de vista estrictament limnològic de tres cubetes situades al lòbul Nord de l'estany de Banyoles les quals es troben pràcticament aïllades unes de les altres. Cap dels treballs de Limnologia que s'havien fet fins a l'actualitat sobre l'estany de Banyoles estudiava comparativament les seves cubetes. Miracle (1973) i Planas (1973) varen estudiar el zooplancton, centrant el mostratge a la cubeta II, que correspon més o menys al centre geomètric de l'Estany. Abella (1980) va estudiar la dinàmica de les poblacions de bacteris fototròfics del sofre a la cubeta III, tot comparant-les amb altres ambients diferents de l'Estany, com són els estanyols que es troben a la conca lacustre de Banyoles.

S'ha de tenir en compte, però, que fins l'any 1987 no es confecciona la última versió del mapa batimètric de l'Estany que subsanava les deficiències de l'anterior, el qual no resolía massa bé el lobul Nord. Per tant, fins aquesta data no es coneixia la cubeta VI i es tenia molt poca informació sobre la cubeta IV. Aquest nou mapa va ésser confeccionat per Moreno-Amich i Garcia-Berthou (1989) a partir d'un intens treball de descoberta de noves surgències portat a terme per l'equip d'investigadors de l'Institut d'Ecologia Aquàtica. Fins el 1985 es coneixien tant sols cinc surgències, que es localitzaven a sengles cubetes i eren numerades amb xifres romanes. Brunet et al. (1985) varen descriure i afegir tres noves cubetes a les conegudes fins aleshores (VI, VII i VIII). Posteriorment Moreno-Amich i Garcia-Berthou (1986) varen descriure dues surgències més a la zona Sud de l'Estany (IX i X), i una altra - la segona - a la cubeta IV (XI). En aquests moments, se'n coneixen dotze, tres d'elles a la cubeta IV, i no es descarta que encara n'hi puguin haver-hi, o formar-se de nou, algunes més.

El segon objectiu d'aquest treball té a veure amb les poblacions de bacteris fototròfics del sofre que creixen a l'hipolimnion de les tres cubetes esmentades i molt especialment amb la seva dinàmica i distribució, tant en el temps com en l'espai. L'existència de tres cubetes pròximes en un mateix

llac, amb anòxia i sulfhídric als seus respectius hipolimnia, és un fenomen que no s'ha de passar per alt des d'un punt de vista de l'Ecologia Microbiana.

La coincidència en les distribucions temporals i espacials de bacteris fototròfics del sofre i el ferro, va plantejar qüestions sobre l'aparent relació existent entre ambdós. Per tant, al final del treball es fa necessari fusionar aquests dos objectius (estudi limnològic comparat i dinàmica de bacteris fototròfics) en un de sol que implica qüestions fisiològiques dels propis bacteris i té el ferro com a eix principal de les investigacions.

Un dels aspectes nous d'aquest treball en relació a altres estudis sobre Limnologia i Ecologia Microbiana a l'estany de Banyoles, és l'estudi del cicle del ferro, un element que finalment s'ha mostrat important en la dinàmica química de les aigües d'algunes cubetes. A més, aquest element interacciona de forma decissiva en la dinàmica del sofre, especialment de la seva forma més reduïda (sulfhídric), el qual és potser el component químic més important de l'estany de Banyoles atesa la naturalesa sulfatada de les seves aigües.

L'estudi del cicle biogeoquímic d'un element en un sistema aquàtic requereix un cert nivell de coneixement sobre els aspectes químics més importants que li són propis. Aquestes característiques, a la llarga, han d'explicar el comportament de l'element en qüestió en l'ecosistema estudiat, i tenen a veure amb els seus estats d'oxido-reducció, la seva solubilitat amb els diferents components de l'aigua, etzètera. Tot seguit es recullen un seguit de conceptes sobre la química del ferro que ha de servir per a una millor comprensió del present treball.

El ferro és un element que, malgrat ser el més abundant a la litosfera, ha estat poc estudiat en ambients aquàtics naturals de manera monogràfica. És probable que la gran diversitat de reaccions químiques que es capaç d'experimentar en funció de les condicions en què es troba i la seva facilitat de formar complexos amb nombroses substàncies orgàniques, principalment húmiques han dissuadit a més d'un limnòleg a convertir-lo en l'eix principal del seu estudi. Per això, en Limnologia, es tendeix a estudiar el ferro com un element que forma part del decorat químic on els principals processos biològics hi representen la seva funció.

Els treballs que tenen com a línia principal el trinomi ambient natural-química-biologia són poc freqüents a la bibliografia. Normalment es tendeix a estudiar la relació de determinats microorganismes amb determinats metalls al laboratori, generalment amb el metall en qüestió com a element molt

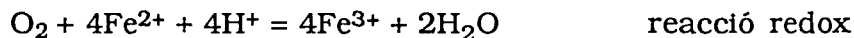
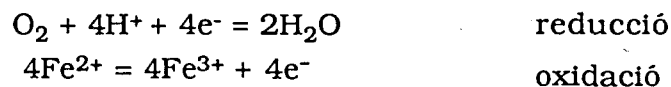
actiu del metabolisme i fisiologia del microorganisme en qüestió, o bé a fer estudis de camp sobre aspectes purament químics de la presència de ferro en un ambient aquàtic determinat.

Per tal de conèixer bé la geoquímica del ferro, és necessari primerament saber quelcom sobre el comportament químic d'aquest element, el qual adopta formes solubles o insolubles en funció de dos variables principalment com són el pH i el potencial d'òxido-reducció (Eh.)

Bàsicament, el ferro pot trobar-se en dos estats diferents: oxidat o reduït presentant valència III i II respectivament.



Les reaccions que determinen el parell redox $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ s'escriuen en els següents termes:



Les condicions d'òxido-reducció del sistema determinarà l'estat químic del ferro. La solubilitat de les diferents formes d'oxidació del ferro també és un tema important en limnologia doncs d'aquest factor dependrà la importància del paper que aquest element pugui jugar en la química d'un ambient aquàtic donat. Generalment, a valors de pH neutres les formes reduïdes solen ser solubles en forma d'ió lliure Fe^{2+} . En canvi, les formes oxidades són altament insolubles formant precipitats d'hidròxid fèrric ($\text{Fe}(\text{OH})_3$). Aquesta solubilitat vindrà determinada tammateix pel pH de l'ambient on es trobi. L'oxidació del Fe^{2+} a pH superiors a 5 és una reacció de primer ordre en relació a les concentracions de Fe^{2+} i O_2 i de segon ordre respecte a l'ió OH^{-} . Això vol dir que la pujada d'una unitat de pH produeix un increment de 100 vegades la velocitat de reacció (Stumm i Morgan, 1981).

A la figura 1.1 es presenta un diagrama pe-pH per al sistema Fe, H_2O i CO_2 . Els carbonats juguen un paper important en la distribució de les formes del ferro car forma compostos insolubles tant amb la forma oxidada com la reduïda. Altres elements como el sofre també intervenen de forma decisiva en la distribució del ferro en aigües naturals. A l'estany de Banyoles, tant el ferro, com els carbonats i els sulfats són elements capdals en la composició tant de les seves aigües com de la seva estructura geològica. Les relacions entre aquestes espècies químiques són analitzades en aquest estudi.

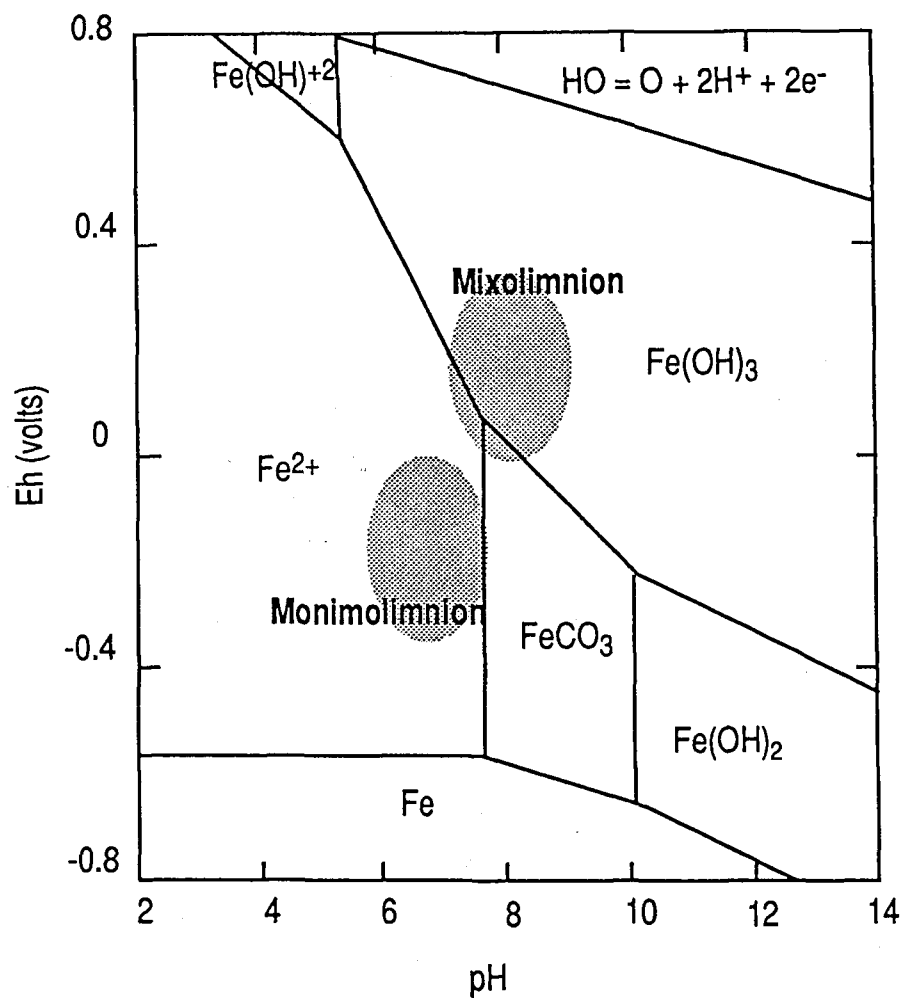


Figura 1.1. Diagrama Eh-pH per a les espècies del ferro (Stumm i Morgan 1970) mostrant (àrees sombrejades) les condicions que poden trobar-se a la cubeta IV de l'Estany de Banyoles. **Figure 1.1.** Eh-pH diagram of iron species (Stumm & Morgan 1970) with shaded area corresponding to the conditions that can be found in Basin IV of Banyoles Lake.

El diagrama Eh/pH o pe/pH^(*) representa un gran ajut per entendre l'estat químic del ferro en l'ambient que s'està estudiant. Aquests diagrames són la combinació de 2 tractaments gràfics: d'una banda l'equilibri entre les espècies químiques en un estat d'oxidació determinat en funció del pH i de la composició de la solució; en segon lloc, l'equilibri entre espècies químiques a pH constant en funció del pe (o Eh). No obstant, no s'ha d'oblidar que s'utilitzen dades que fan referència a l'equilibri químic entre les diferents espècies, i que els ambients aquàtics naturals solen ser sistemes químics dinàmics on rarament s'assoleix l'esmentat equilibri.

Estructura del treball

La present memòria està configurada, atès el seu plantejament inicial, d'una forma pot ser no massa habitual. Consta de sis capítols: En primer lloc, al capítol 1 es fa una introducció general al treball. Posteriorment es recullen al capítol 2 els materials i mètodes emprats en els diferents treballs portats a terme. I finalment es presenten quatre capítols que recullen els diferents treballs portats a terme i que consten cada un d'ells d'introducció, resultats i discussió.

D'aquests quatre capítols, els dos primers serveixen d'aproximació al coneixement del cicle limnològic en general de tres cubetes situades al nord de l'estany de Banyoles: C-III, C-IV i C-VI i en particular de les poblacions de bacteris fototròfics que en elles s'hi desenvolupen. Aquestes cubetes formen unes unitats estructurals pròximes a l'espai, però suficientment aïllades unes de les altres com per presentar marcades diferències en alguns aspectes dels seus respectius cicles limnològics, especialment aquells relacionats amb el desenvolupament de condicions anòxiques. Els dos últims es dediquen a centrar el problema, tot estudiant alguns dels aspectes més interessants del cicle del ferro així com les possibles implicacions que aquest cicle pugui tenir en l'ecologia fisiològica dels bacteris fototròfics del sofre.

En concret, el capítol 3 presenta les distribucions de les principals variables fisico-químiques que caracteritzen l'estany de Banyoles, a través de coordenades espai-temps, parant especial atenció a aquells que més directament poden afectar el desenvolupament de poblacions de bacteris fototròfics del sofre.

(*) pe es defineix com $-\text{LOG} [e^-]$ i es relaciona amb el Eh mitjançant: $Eh = (RT/2.303) \cdot pe$. Substituint les constants R i T pels seus valors a 25°C obtenim $Eh = 0.059 \cdot pe$

El capítol 4 es centra en l'estudi de la composició i cicle de les esmentades poblacions bacterianes. La similitud general de les característiques fisico-químiques de les aigües de les tres cubetes, fa que s'hagi de tenir molt en compte la incidència de factors externs com la llum, a l'hora d'explicar les diferències que s'hi poden trobar. També es presenta un estudi realitzat a la cubeta IV, sobre la distribució horitzontal d'una població laminar de bacteris fototròfics del sofre.

El cicle del ferro a l'estany de Banyoles és estudiat al capítol 5 als diferents compartiments (sediment compacte, sediment en suspensió, interfase sediment-aigua i columna d'aigua), per acabar amb la confecció d'un model cinètic que descriu el comportament dinàmic del ferro a la cubeta IV. Al capítol 6 s'estudien les implicacions ecològiques i fisiològiques que el ferro soluble pot tenir en el desenvolupament dels bacteris fototròfics, tant en el seu ambient natural com al laboratori. S'intenta, en definitiva, donar una explicació, ecològica i fisiològica a uns fets concrets dels que participen la química i la microbiologia i que són d'una banda la presència de denses poblacions de *Chlorobium phaeobacteroides* en unes condicions on el ferro domina la química del sistema i el sulfhídric és pràcticament indetectable, i d'altra banda l'associació observada entre ferro i *Chlorobium* en el temps i l'espai.

Finalment, els capítols 7 i 8 recullen respectivament les principals conclusions del treball i les referències bibliogràfiques que citades al text.

Per tancar la memòria s'hi han afegit un seguit d'annexes que recullen els llistats dels programes d'ordinador creats per a realitzar càlculs i les dades dels diferents mostreigs de 1988 i 1989.



2. Materials i mètodes

2.1. ZONA D'ESTUDI

El treball de camp s'ha desenvolupat bàsicament a les cubetes III, IV i VI de l'estany de Banyoles (C-III, C-IV i C- VI), per bé que, especialment per qüestions relacionades amb el cicle del ferro, també s'han realitzat estudis a l'estanyol del Vilar i al Lake Vechten (Holanda). Aquestes tres cubetes determinen, l'anomenat lòbul Nord, essent els més grans de nombrosos enfonsaments localitzats a aquesta zona de l'estany de Banyoles (figura 2.1).

La zona estudiada està situada geogràficament a 2° 45' 40" Est i 42° 07' 45" Nord, llindant a l'Oest amb la ciutat de Banyoles, capital de la comarca anomenada Pla de l'Estany, a 175 m sobre el nivell del mar. L'Estany es troba dins el terme municipal de Banyoles. La toponímia local utilitza preferencialment la paraula 'estany' per referir-se a un llac de petites dimensions, de la mateixa manera que parlen d'"estanyol" quan es refereixen a masses d'aigua, generalment formades a partir d'enfonsaments geològics, però de dimensions molt més reduïdes, com l'estanyol del Vilar, l'estanyol d'en Sisó, l'estanyol de la Cendra, per citar-ne alguns dels més coneguts.

La cubeta IV fou la primera en ser recollida en una batimetria (Vidal 1908). El mapa realitzat per Margalef (Planas 1973) ja incorporà en el seu mapa batimètric les actuals cubetes II i IV. C-V és dibuixada per Julià (1980). Abellà (1980) en el seu mapa no presenta noves cubetes però sí presenta, però hi introdueix els importants conceptes de surgència i sediment en suspensió, essent el primer en descriure les surgències de les cubetes C-III, C-IV i C-V.

2.2. BATIMETRIA I MOSTREIG

2.2.1. Paràmetres morfomètrics

Els perfils batimètrics que es presenten han estat efectuats a partir de registres d'ecosondació. L'ecosondador emprat fou un FURUNO FE-450 de 50 KHz de freqüència (Müller 1977). Les ecosondacions es feien des d'una barca amb un motor de baixa potència (Evinrude 4 C.V.), a la mínima velocitat constant possible.

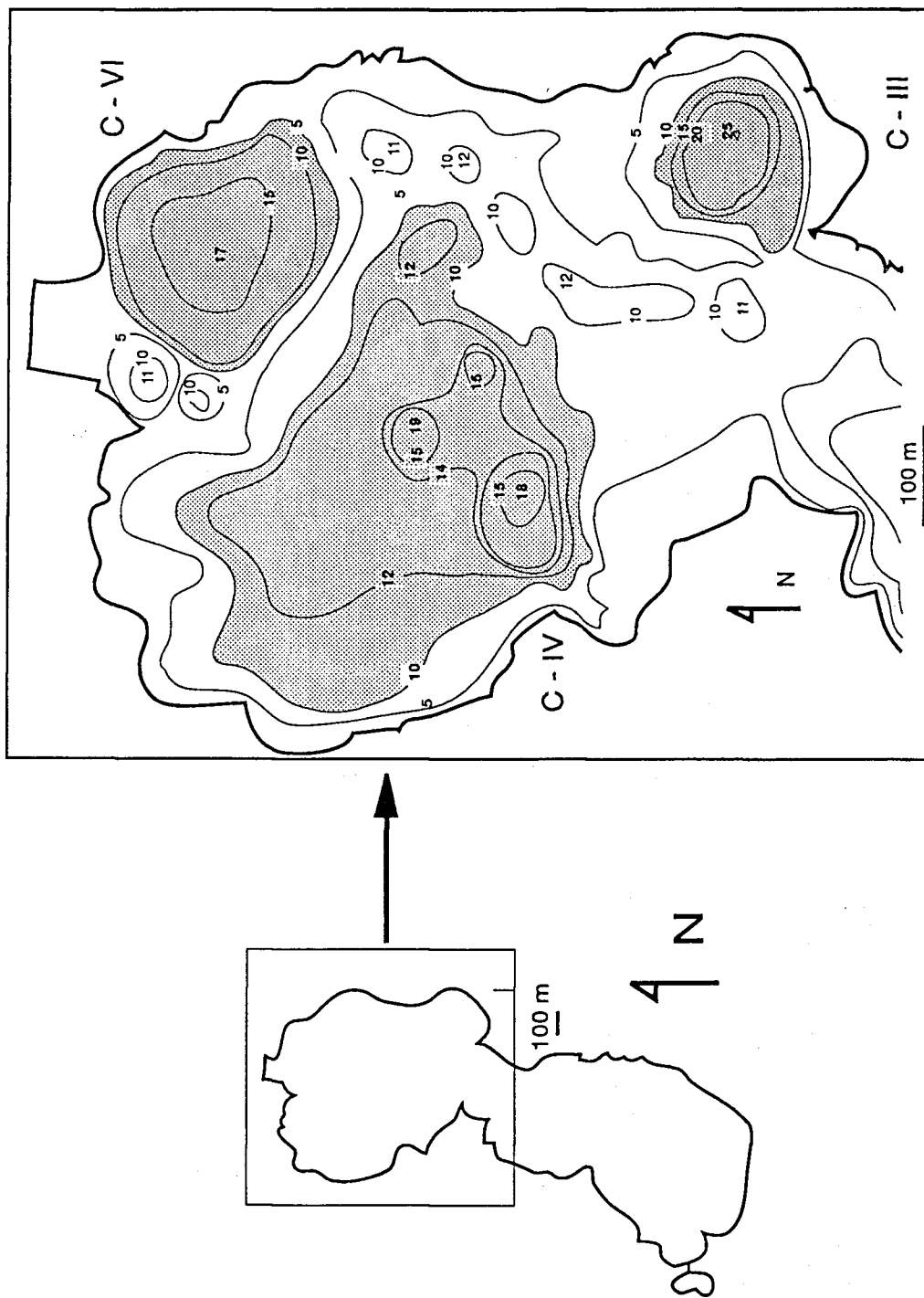


Figura 2.1. Mapa batimètic del lòbul nord de l'Estany de Banyoles on es localitzen les tres cubetes estudiades, indicades com C-III, C-IV i C-VI. Dibuixat a partir de Moreno-Amich i Garcia-Berthou (1989). **Figure 2.1.** Bathymetric map of Nord area of Banyoles Lake. Studied basins C-III, C-IV and CV-VI are indicated. Redrawn from Moreno-Amich & Garcia-Berthou (1989).

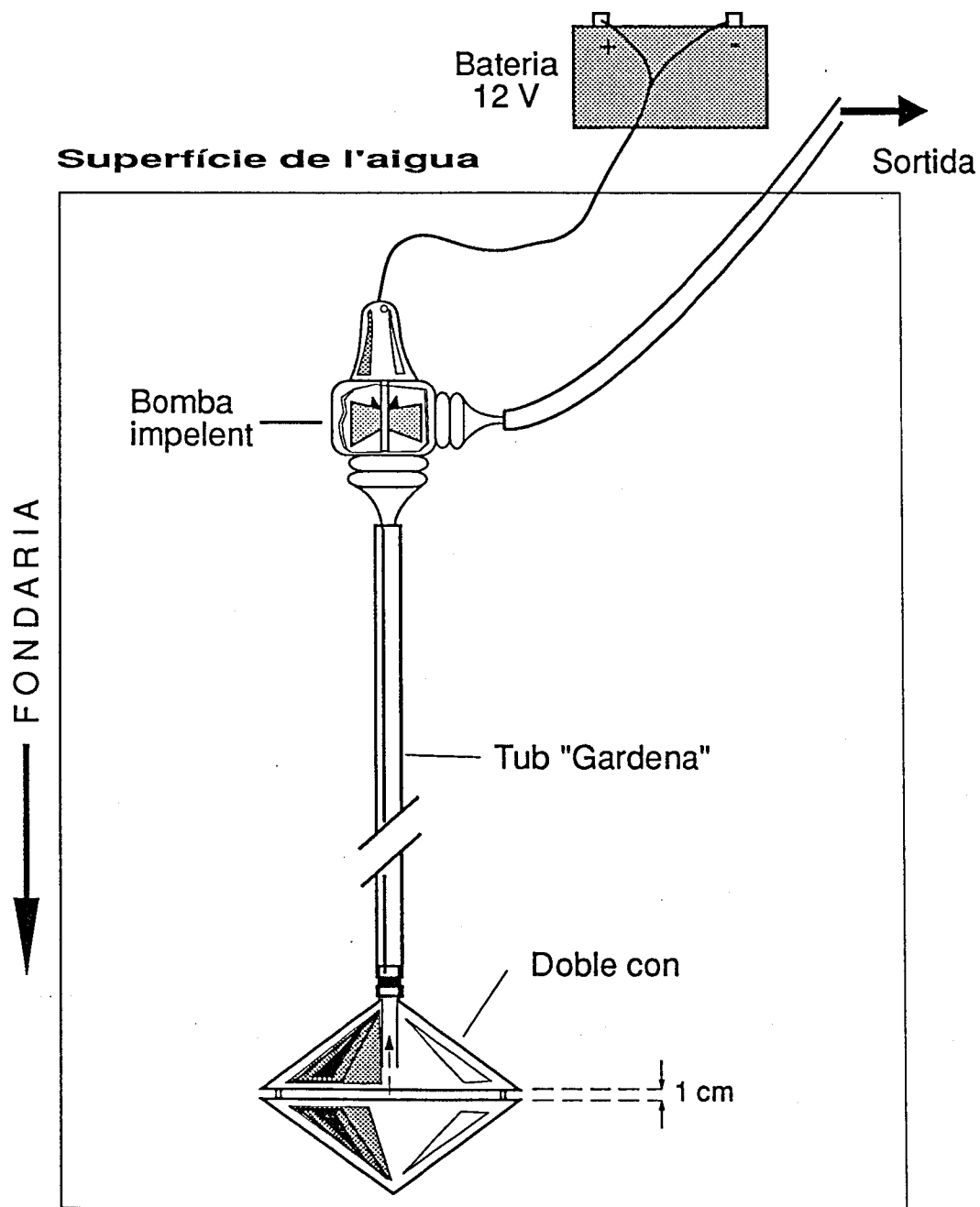


Figura 2.2. Sistema de doble conos utilitzat per a prendre mostres estratificades a diferents fondàries. **Figure 2.2.** Sampler used to take water from different depths.

2.2.2. Mostreig

Les mostres es prenen en el punt de màxima fondària dels llacs (Llac Vechten, Holanda) i les cubetes estudiades (C-III, C-IV i C-VI de l'estany de Banyoles, C-I de l'estanyol del Vilar). Si s'observa la batimetria d'aquestes cubetes surgents es pot observar com el fons dur de C-IV es situa entre 14 i 15 m, mentre que els perfils de distribució vertical de les diferents variables arriben als 18 m. Aquests metres "de més" formen un "forat" que va des de 14 m fins als 18 m on es troba el sediment en suspensió. A l'hivern la meromixi de la cubeta queda reduïda a aquest petit forat, amb la quimioclina oscil·lant entre 16 i 18 metres. Això és conseqüència de l'erosió de la quimioclina durant la mescla hivernal.

Per tal de situar-se sobre el punt de màxima fondària es prenen referències externes a C-IV i C-VI i s'utilitzava una boia a C-III. Per situar-se sobre el sediment en suspensió de C-IV es prenen les següents referències.

Oest: El menor dels tres pollancre de Can Morgat, coincidint amb el Puig de les Gitanes.

Sud. La Punta de Can Sisó, coincidint amb la Pesquera numero 10 (Can Lero.)

La barca s'anclava a proa i popa per tal de tenir la mateixa orientació durant tot el mostreig.

El sistema de mostreig utilitzat està basat en el descrit a Jorgensen et al, (1979) i consisteix en un tub *Gardena* amb un doble conus de metacrilat de 20 cm de diàmetre, separats per 1 cm a un extrem. A l'altre extrem hi ha una bomba impelent de pales connectada a una bateria d'automòbil de 12 V (figura 2.2). Aquest sistema de mostreig laminar és especialment útil en els mostreigs fins dels gradients on es troben moltes poblacions microbianes com els de bacteris fototròfics del sofre, permetent prendre mostres a intervals de fins a 10 cm. Per arribar a aquesta precisió és imprescindible que la barca estigui absolutament immòbil, per la qual cosa els mostreigs s'efectuaven a primera hora del matí, quan l'estany és més planer. Per l'anàlisi de les mostres es prenia un litre de cada fondària en una botella que era tancada hermèticament tot evitant que hi quedessin bombolles d'aire que podrien alterar la mostra, i preservada de la llum.

Malgrat que l'aparell de mostreig descrit satisfà totes les necessitats, hom seguia utilitzant complementàriament la ampolla limnològica Ruttner, per tal de fer una primera aproximació visual tant per la localització dels "plates" o làmines de bacteris fototròfics com per la detecció de la interfase entre l'aigua i el sediment en suspensió.

En el punt de mostreig s'efectuaven les següents medicions: Temperatura, conductivitat, oxigen i penetració de la llum. Una vegada mesurades i representades les variables fisico-químiques es programava un pla de mostreig estratificat fent especial incidència allà on les esmentades variables indicaven la presència d'activitat biològica. L'oxiclina i els gradients tèrmics (sovint coincidents) eren punts d'especial atenció on s'intensificava al màxim el número de mostres. També es tenien en compte els màxims relatius d'oxigen a l'hora de prendre mostres per quantificar el fitoplancton, per bé que no sempre són coincidents.

Les mostres per a les capes anòxiques es prenen a intervals de 10 a 25 cm als gradients i cada metre per sota, mentres que a les capes amb oxigen es prenen més espaiades (cada 3 metres al mixolimnion de C-IV).

La periodicitat de mostreig oscil.lava entre una i dues setmanes, la qual cosa es considera suficient per monitoritzar els canvis que hi puguin tenir lloc en aquesta cubeta, especialment en tot allò que fa referència als continguts de ferro, sulfhídric i bacteris fototròfics del sofre.

2.3. PARÀMETRES FÍSICS

2.3.1. Temperatura i conductivitat

La temperatura i la conductivitat es mesuraven conjuntament (és a dir, baixant les dues sondes a la vegada) donat que aquestes dues variables s'utilitzaven posteriorment per a calcular la densitat de l'aigua segons queda explicat en el següent apartat.

Per a la temperatura s'utilitzà un termistor de camp CRISON model T-637. La conductivitat de l'aigua es va mesurar amb un conductímetre Yellow Spring Instruments model 33. Aquesta variable pren valors que depenen directament de la temperatura, enregistrat-se un increment del 2 % per grau centígrad (Crison, manual d'instruccions). Per tal de corregir això, s'ha calculat la conductivitat a 20 °C per a totes les fondàries, mitjançant la fórmula descrita en el següent apartat.

2.3.2. Densitat

La densitat de l'aigua es va calcular mitjançant la utilització d'un polinomi de tercer grau que relaciona la conductivitat corregida a 20 °C i la temperatura segons Bührer i Ambühl (1975):

- Conductivitat corregida, $C(20)$

$$C(20) = C \cdot (-0,00001222651 \cdot T^3 + 0,00114842 \cdot T^2 - 0,0541369 \cdot T + 1,72118)$$

On $C(20)$ és la conductivitat corregida a 20 °C; C i T corresponen a la conductivitat i temperatura respectivament, mesurats al camp.

- Correcció de la densitat en funció de la temperatura:

$$dH_2O = (0,059385 \cdot T^3 - 8,56272 \cdot T^2 + 65,4891 \cdot T) \cdot 10^6 + 0,99984298$$

dH_2O és la densitat de l'aigua destil·lada corregida per a la temperatura.

- Densitat de l'aigua:

$$DH_2O = dH_2O + 0,64 \cdot 10^{-6} \cdot C(20)$$

La fórmula és vàlida entre 0°C i 24°C amb una desviació de +/- 0.00000 g/cm³. Ha estat utilitzada amb anterioritat al Lago di Cadagno per Deldon (1986) hi ha estat verificada per a aigües sulfatades i carbonatades, condicions que s'ajusten a les característiques químiques de l'estany de Banyoles.

2.3.3. Penetració de la llum

La penetració de la llum a la columna d'aigua fou mesurada mitjançant dos sistemes diferents. Fins a 1988 es va fer amb una cèl·lula fotoelèctrica de seleni MEGATRON connectada a un mil·liamperímetre. La llum es donava en percentatge en relació a la llum incident a la superfície. Durant l'any 1989 s'ha utilitzat un quantòmetre de tipus esfèric Biospherical Instruments, QSP-170 que incorpora una esfera de Teflon de 1,9 cm de diàmetre i detecta la radiació d'activitat fotosintètica (PAR) situada entre 400 i 700 nm de longitud d'ona. Les mesures venien donades en quantes de llum · seg⁻¹·cm⁻², unitats interconvertibles a μE · seg⁻¹·cm⁻², segons la següent relació:

$$6,022 \times 10^{17} \text{ quanta} \cdot \text{seg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} = 1 \mu\text{E} \cdot \text{seg}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$$

(1 Einstein correspon a 1 mol de fotons o quanta)

La llum a cada fondària era donada en tant per cent en relació a la llum incident a la superfície. Aquest últim valor es mesurava a partir de 10 o 15 cm per sota el nivell de l'aigua amb la finalitat d'eliminar l'efecte superfície (Vollenweider, 1974). La llum a la superfície es calculava per extrapolació.

Un altra variable derivada de la mesura de la llum incident a diferents fondàries és el **coeficient d'extinció**.

$$n = (\text{Log } I_1 - \text{Log } I_2) / (Z_2 - Z_1)$$

on I_1 i I_2 són les intensitats relatives en % a les fondàries Z_1 i Z_2 respectivament.

També es prenen mesures de transparència amb el disc de Secchi. Aquest tradicional sistema és un disc blanc de 20 a 30 cm de diàmetre el qual es submergeix a la columna d'aigua, anant-se la fondària a la que deixa de ser visible.

2.3.4. Terbolesa

La terbolesa de l'aigua va mesurar-se amb un turbidímetre vertical compost per un emissor de llum i una cèl.lula fotoelèctrica situada a 20 cm, connectat tot a una bateria de 12 V, segons segons el model contruït i descrit per Montesinos (1982).

2.4. PARÀMETRES QUÍMICS.

Per les anàlisis químiques, les mostres eren processades dins d'un període de poques hores després de la seva obtenció, degut a la presència d'espècies químiques reduïdes i per tant susceptibles d'experimentar canvis relativament ràpids.

2.4.1. pH

El pH es mesurava al laboratori amb un pH-metre CRISON model 506.

2.4.2. Potencial redox

El potencial redox se mesurava amb un electrode combinat de platí METROM model 6.0401.100.

2.4.3. Oxigen dissolt

L'oxigen dissolt es mesurava *in situ* amb un oxímetre Yellow Spring Instruments model 57. La mesura ve donada per l'oxigen que travessa una membrana permeable essent proporcional a la pressió parcial externa. Aquest sistema presenta interferències en la lectura quan en el medi hi és present el sulfhídric.

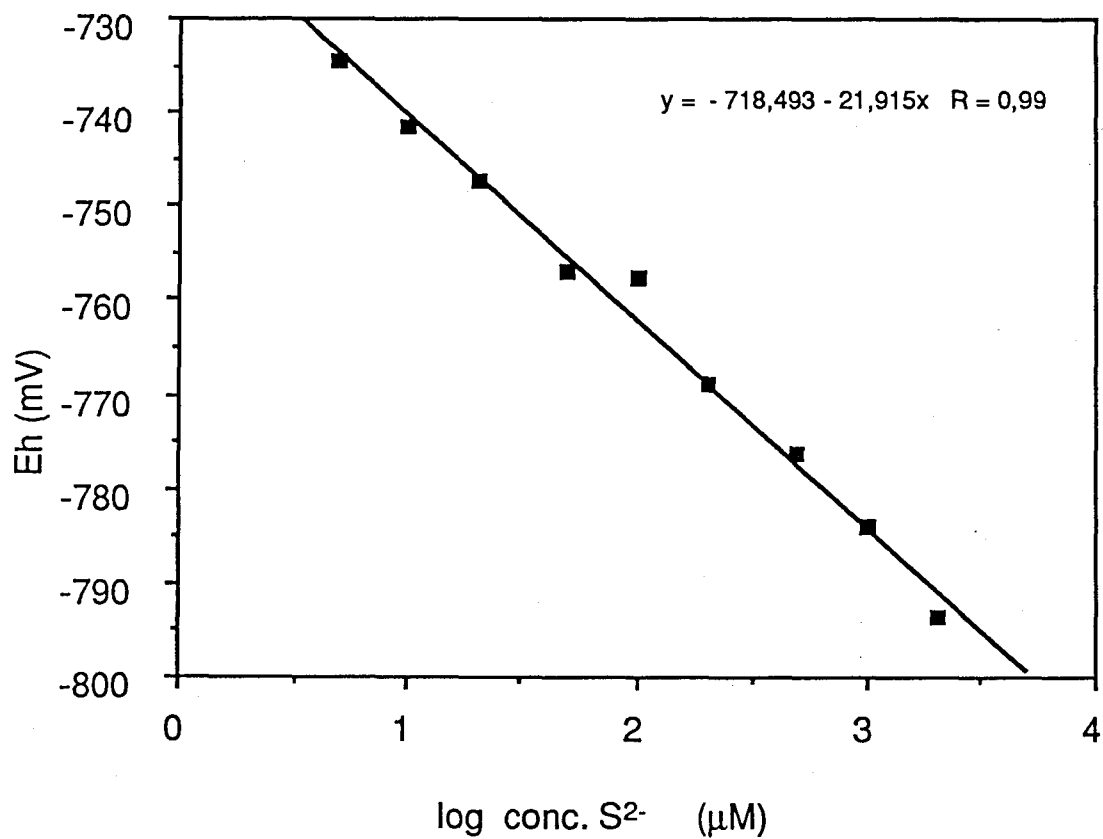


Figura 2.3. Recta patró de sulfhídric (H₂S) obtinguda amb un electrode selectiu de sulfurs. **Figure 2.3.** Standard curve of H₂S obtained with a sulfide selective electrode.

Taula 2.1. Preparació de les solucions patró de S^{2-} des de 2 mM fins a 50 μM , per l'anàlisi amb electrode selectiu.

TUB	mil.litres			Conc (mM)
	H ₂ S 0,1M	H ₂ O dest.	SAOB II	
1	0,2	9,8	10	2,0
2	0,1	9,9	10	1,0
3	0,05	10,0	10	0,5
4	0,02	10,0	10	0,2
5	0,01	10,0	10	0,1
6	0,005	10,0	10	0,05

2.4.4. Sulfhídric

El sulfhídric s'analitzava potenciomètricament, utilitzant un electrode selectiu de $\text{Ag}^+/\text{Ag}_2\text{S}$ ORION model 94-16. Aquest electrode està compost per una membrana sòlida de sulfur de plata i una solució interna que conté una concentració constant de Ag^+ . Quan es submergeix l'electrode en una mostra que conté Ag^+ o S^{2-} es genera un potencial depenent dels nivells de plata o sulfur. Aquest potencial es mesurava en mV i era comparat amb el produït per un electrode de referència el qual es mesurava amb un electrode de doble unió ORION model 90-02.

Les mostres es fixaven al camp amb l'anti-oxidant SAOB II (acrònim de l'anglès Sulphide Anti-Oxidant Buffer) en una proporció 1:1, utilitzant tubs de vidre roscats de 20 mL de capacitat.

* Preparació del SAOB II

S'afegeixen 35 g d'àcid ascòrbic, 67 g de EDTANa_2 i 200 mL de NaOH 10 M a 1 litre d'aigua desgasificada per ebullició i refredada sota pressió de CO_2 . L'àcid ascòrbic actua d'agent reductor, l'EDTA de quelant, segrestant els metalls que podrien fer precipitar el S^{2-} , i el NaOH produeix un pH per sobre de 10 que manté el sulfhídric en la seva forma més ionitzada (S^{2-}). Agitar la solució i distribuir en botelles que tanquin hermèticament. Un SAOB II en bones condicions ha de presentar un aspecte transparent amb una certa tonalitat groga. Una vegada oxidat presenta una coloració marron-vermella molt intensa.

* Patró de S^{2-} :

Es prepara una solució inicial de 0,1 M de H_2S , afegint 6 g de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ i 2,27 g de NaCO_3 a 250 mL d'aigua desgasificada. Preparar 5 tubs roscats de 20 mL i procedir segons la taula 2.1.

En la figura 2.3 es mostra una recta de calibració de sulfhídric efectuada per aquest procediment.

La resposta de l'electrode selectiu és depenent del pH fins a valors propers a 7. Des d'aquest valor fins a 14 no existeix incidència del pH en la lectura (Guterman i Been-Yaakov, 1983).

2.4.5. Anàlisi del ferro

Per l'anàlisi del ferro s'aprofita la capacitat que aquest element té per a complexar-se amb determinades substàncies (indicadors) i donar compostos colorejats amb una intensitat proporcional a la seva concentració. Les substàn-

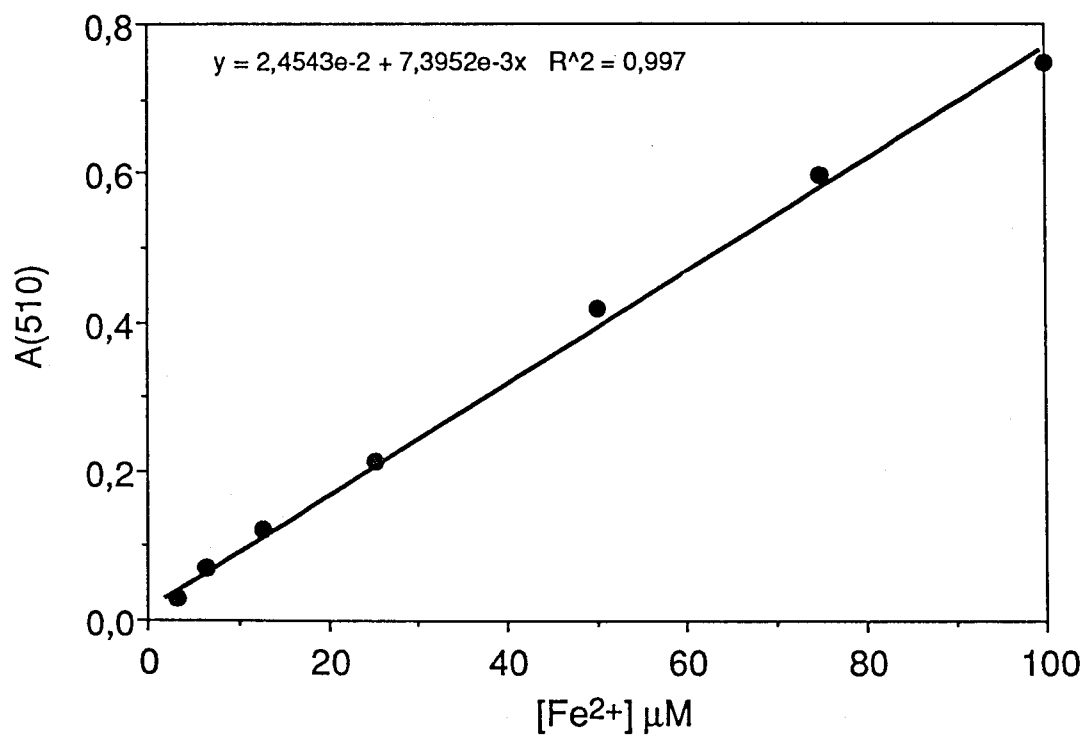


Figura 2.4. Recta patró de ferro soluble obtinguda obtinguda pel mètode de la 1-10-0-Fenantrolina. **Figure 2.4.** Standard curve obtained by the 1-10-o-Phenanthroline method.

Taula 2.2. Principals característiques dels dos indicadors més utilitzats en l'anàlisi del ferro.

INDICADOR	MAXIM ABS.	ESTABILITAT	RANG PH	LLEI DE BEER
1-10-Fenantrolina	508 nm	6 mesos o més	2-9	S'acompleix
Tiocianat	480 nm	Desapareix ràpidament (si no s'estabilitza)	HNO ₃ 0,05 a 1 N	Lleugera desviació

cies indicadores més utilitzades són el TIOCIANAT (SCN^-) pel Fe^{3+} soluble i la 1,10-o-FENANTROLINA per al Fe^{2+} . Les característiques d'ambós indicadors es recullen a la taula 2.2.

2.4.5.1. Ferro soluble (Fe^{2+})

S'ha utilitzat el mètode de la 1,10-o-Fenantrolina (1,10-OF) segons Vogel (1978). La 1,10-OF forma complexos hexacovalents fortament colorejats (taronja-vermell) del tipus FeL_3^{++} i concretament,



en medis lleugerament àcids, neutres o lleugerament alcalins. Per sota de $\text{pH}=2$ el color del complex es desenvolupa molt més lentament no arribant a assolir en cap cas la intensitat al pH recomanat. És un fet favorable la gran estabilitat (superior a sis mesos) d'aquest tipus de complexos. El baix cost del reactiu el converteixen en l'indicador ideal per a l'ió ferrós (Fe^{2+}). Una altra qualitat del mètode és el fidel acompliment de la llei de Beer entre amples marges de concentració, tal com mostra la figura 2.4.

Es recomana fer l'anàlisi el més ràpidament possible una vegada s'ha obtingut la mostra, donada la facilitat amb la que l'ió Fe^{2+} s'oxida a Fe^{3+} .

* Procediment

Afegir 0,5 mL d'una solució 0,25 % de 1,10-OF a 9,5 mL d'aigua als quals prèviament s'hi han afegit 0,03 mL d'una solució de Citrat Sòdic al 25 %. El citrat sòdic, en aquesta proporció, amorteix el valor de pH entre 4 i 5. Llegir l'absorvència a 510 nm. Si la mostra presenta terbolesa cal restar A_{650} .

2.4.5.2. Ferro total (Fe^{3+})

Per tal d'analitzar el ferro total, s'ha partit de la base que tot el ferro present en la mostra d'aigua s'oxida i es solubilitza (Cotton i Wilkinson, 1980). El Fe^{3+} , una vegada solubilitzat, forma un complex colorejat amb el tiocianat que pot representar-se com



on "n" pot oscilar entre 1 i 6 depenent de la concentració de tiocianat utilitzada.

* Procediment:

A 9 mL de mostra s'hi afegien 0,05 mL de HNO_3 conc. La solució es posava al bany maria (80-90 °C) durant 15 minuts. Després de refredar els tubs,

s'afegeix 1 mL d'una solució 1M de tiocianat i es llegeix immediatament l'absorvència a 480 nm.

Aquest mètode és lineal des de 0,5 μ M fins a 100 mM aproximadament. A partir d'aquesta darrera concentració el mètode perd la seva "obediència" a la llei de Beer. Les interferències són mínimes i només altes concentracions de manganès podrien alterar el resultat (Sandell, 1959).

* Estabilitat del complex

Una de les fonts d'error més comunes a aquest mètode es deriva de la pèrdua d'intensitat del color amb el temps, especialment quan la solució s'exposa a la llum. Aquest esmoreïment del color pot provocar una pèrdua de fins a un 10 % en la seva intensitat en tan sols 10 minuts (figura 2.5). L'addició d'una petita quantitat de persulfat amònic estabilitza el color.

2.4.5.3. Anàlisi del ferro al sediment.

Es prenen cates de sediment de diferents fondàries per a una mateixa cubeta. Es tallaven porcions de 1 cm i es prenia una alíquota la qual, una vegada pesada es posava en un Erlenmeyer juntament amb 50 mL d'aigua destil·lada i 5 mL de HNO_3 concentrat. La mescla es feia bullir 10 minuts en un bany de sorra amb la qual cosa s'oxidava i solubilitzava tot el ferro en forma de Fe^{3+} alliberant-ne els carbonats. Una vegada refredat es filtrava a través d'un filtre Nuclepore de 0,22 μm de diàmetre. S'analitzava el contingut en Fe^{3+} de l'efluent seguint el mètode descrit en l'apartat 2.4.5.2.

2.5. PARÀMETRES BIOQUÍMICS

2.5.1. Anàlisi qualitativa i quantitativa de pigments

L'anàlisi de pigments en una mostra d'aigua amb presència de bacteris fototròfics del sofre s'ha utilitzat tant per a la quantificació dels esmentats microorganismes com per a la seva identificació. Els bacteris fototròfics del sofre comprenen dues famílies ben diferenciades: les Cromatiàcies i les Clorobiàcies. Les primeres, igual que les Rhodospirilàcies, presenten un pigment característic anomenat bacterioclorofil·la a (bcl a) i correspon als bacteris anomenats púrpures. Les clorobiàcies són més diverses en quan a la seva composició en pigments. A l'actualitat s'en coneixen 3 pigments diferents: les bacterioclorofil·les c , d i e .

Cada una de les bacterioclorofil·les enumerades presenta un màxim d'absorció específic que les permet ser identificades, a la vegada que en molts casos serveix per a identificar el gènere del microorganisme del qual prové.

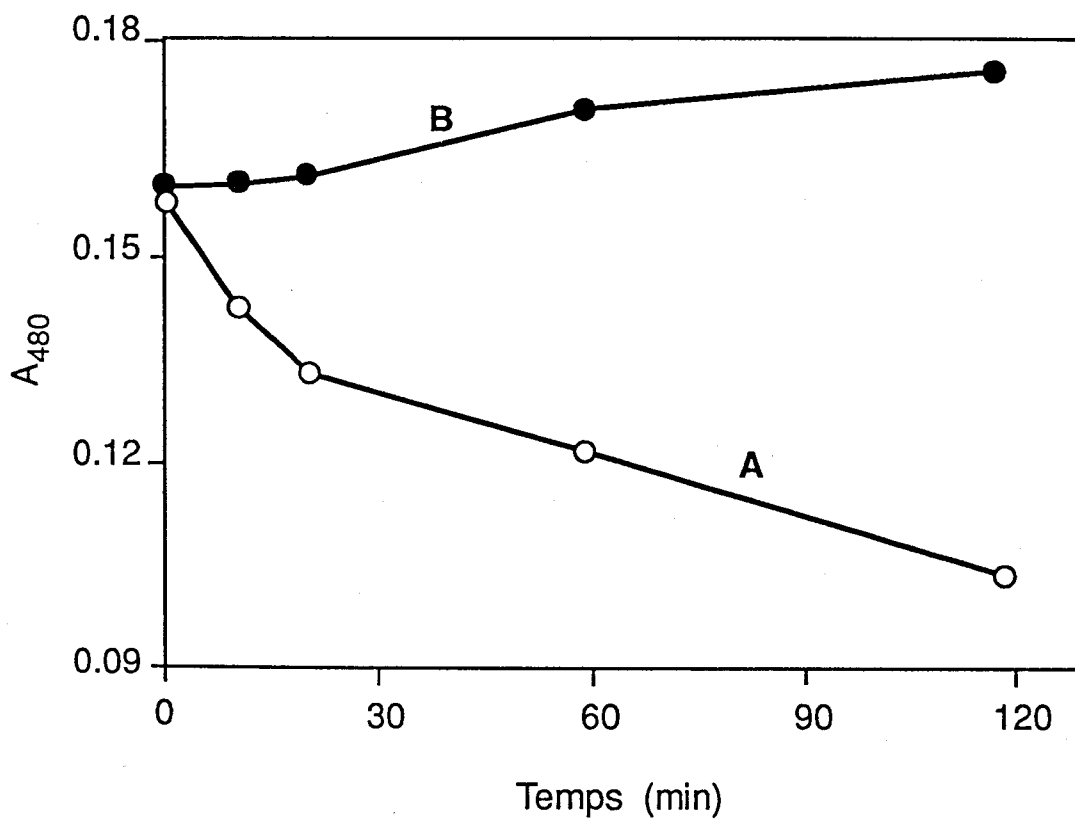


Figura 2.5. Estabilitat del complex colorejat tiocianat-ferro al larg del temps. **A:** sense persulfat, **B:** amb persulfat. **Figure 2.5.** Stability of the coloured complex SCN-Fe along the time. **A:** without persulphate, **B:** with persulphate.

Taula 2.3. Longituds d'ona mesurades en l'anàlisi espectrofotomètrica dels extractes acetònics de les mostres de l'Estany de Banyoles.

λ (nm)	PIGMENT
830	(Terbolesa del medi)
775	Bacterioclorofil.la <i>a</i>
665	Clorofil.la <i>a</i>
654	Bacterioclorofil.les <i>c o d</i>
648	Bacterioclorofil.la <i>e</i>
645	Clorofil.la <i>a</i>
630	Clorofil.la <i>a</i>
485	Okenona
468	Isorenieratè
435	Clorobactè / Carotenoides

Per l'anàlisi de pigments es filtrava un volum conegut (entre 0,25 i 0,5 litres) de mostra sobre un filtre de nitrat de cel.lulosa Schleicher & Schüell BA 85 de 47 mm de diàmetre i 0,45 μm de porus. Prèviament al filtre s'hi dipositaven 2 mL d'una solució de MgCO_3 al 2,5 % . Això evita la colmatació immediata del filtre i la degradació àcida dels pigments durant l'extracció (Humphrey i Wooton 1966, Montesinos 1982).

La capa de MgCO_3 amb les cèl.lules retingudes era recollida amb una espàtula i resuspesa en un tub roscat, tapat hermèticament i preservant de la llum, amb 3 a 5 mL d'acetona al 90 % v/v. L'extracció s'efectua en el congelador (temperatura inferior a 0°C) durant 48 hores. Passat aquest temps es centrifugaven els tubs a 4000 rpm durant 10 minuts, amb la qual cosa el MgCO_3 es compactava al fons del tub. L'extracte sobrenadant era recollit amb una pipeta "Pasteur" i col.locat a la cubeta del espectrofotòmetre per a la seva lectura.

Per a la quantificació dels pigments s'utilitzaren els coeficients específics d'absorció (Smith i Benitez, 1955; Yentsch, 1967; Takahashi i Ichimura, 1968, 1970; Gloe et al, 1975) obtenint concentracions en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Les principals bacteriolorofil·les es quantifiquen segons les següents fòrmules (Montesinos, 1982):

$$\text{Bcl } a = 25,2 \cdot (A_{775} - A_{830}) \cdot f$$

$$\text{Bcl } d = 10,2 \cdot (A_{654} - A_{830}) \cdot f$$

$$\text{Bcl } e = 10,2 \cdot (A_{648} - A_{830}) \cdot f$$

A és l'absorvència a la longitud d'ona indicada i $f=v/V$ on v és el volum de l'extracte acetonic en mL i V és el volum de mostra filtrat en litres. A830 mesura el nivell de turbidesa de l'extracte es resta de l'absorvència dels pics. A830 és la longitud d'ona més propera on els pigments bacterians no absorbeixen, car la bacteriolorofil·la a ho fa a 775 nm. S'ha comprovat al laboratori que els efectes de l'anomenat *scattering*, pel qual aquesta turbidesa augmenta la seva absorvència de manera no linial, al disminuir la longitud d'ona (Freifelder, 1976) només són significatius quan el nivell de terbolesa del medi és elevat (> 0,3 U.A.). Generalment, amb una centrifugació correcta, aquest problema queda obviat i la terbolesa no representa cap problema.

La concentració de carotenoides bacterians es va calcular a partir dels extractes crus acetònics, utilitzant el coeficient d'extinció $E^{1\%}_{1\text{cm}} = 3000$ (Jensen et al. 1964), per als valors d'absorvència següents

Okenona:	485 nm
Clorobactè:	462 nm
Isorrenieratè:	450 nm

Les fòrmules utilitzades foren:

$$Ok (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) = 3.33 \cdot (A_{485} - 0.05 \cdot A_{775}) \cdot f$$

$$Cl (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) = 3.33 \cdot (A_{436} - 1.25 \cdot A_{660}) \cdot f$$

$$Ir (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) = 3.33 \cdot (A_{468} - 1.769 \cdot A_{654}) \cdot f$$

Ok=okenona; Cl=clorobactè; Ir=isorrenieratè

Les absorvàncies es mesuraven en un espectrofotòmetre de registre continu i doble feix SPECTRONIC 2000 de *Bausch & Lomb*. Les longituds d'ona mesurades corresponen cada una a un pigment i estan recollides a la taula 2.3.

En aquestes longituds d'ona s'inclouen també necessàries per a calcular la concentració de clorofil·la a .

Per al càlcul de la concentració de pigments a partir d'un volum considerable de dades s'ha utilitzat el programa en BASIC "CALPIG", realitzat expressament per a aquest propòsit, el llistat del qual es presenta en l'annex de la present memòria. Aquest programa aplica totes les fòrmules a totes les fondàries per la qual cosa no discrimina entre diferents pigments. Aquesta discriminació s'ha fet en base a criteris estrictament ecològics, partint de la premisa que algues i bacteris fototròfics no solen presentar-se junts a l'espai (són fisiològicament i ecològicament excloents), especialment als sistemes meromíctics on els intensos gradients defineixen molt bé la separació entre les aigües on aquestes comunitats es desenvolupen.

L'anàlisi qualitativa de pigments es realitzava mitjançant espectres d'absorció entre 400 i 850 nm dels extractes acetànics. Aquests espectres eren registrats amb un SPECTRONIC X/Y Recorder, connectat a l'espectrofotòmetre.

2.5.2. Paràmetres cinètics.

El càlcul dels paràmetres cinètics K_s , V_{max} , en l'oxidació fotosintètica de FeS, s'ha efectuat gràficament segons el mètode de Counotte i Prins (1979) a partir de la integració de la equació de Michaelis-Menten la qual dóna:

$$K_m \cdot \frac{\ln \frac{[S]}{[S_0]}}{[S] - [S_0]} = V_{max} \cdot t$$

on K_m és la constant de Michaelis, S_0 és la concentració inicial de substrate i S és la concentració de substrate al temps t .

Aquesta expressió és en realitat una recta de la forma

$$y = ax + b$$

on $b = 0$ i a (pendent) = V_{max} .

La representació gràfica de les dades experimentals, dóna regressions diferents, en funció del valor de K_m assumit prèviament, amb $b = 0$. S'assumeixen dos valors per K_m que donessin $b < 0$ i $b > 0$ respectivament, així com dos valors diferents de V_{max} . La solució per K_m i V_{max} es trobava gràficament representant K_m i V_{max} en front de b . Interpolant a les dues rectes per $b = 0$ s'obtenien els valors de K_m i V_{max} corresponents a les nostres dades experimentals.

Els paràmetres de les equacions eren calculats també utilitzant el paquet estadístic BMDP, ajustant les dades experimentals a l'equació mitjançant regressió derivativa no lineal (programa PAR). Les comandes emprades estan recollides a l'annex de la present memòria (veure apartat 2.8).

2.5.3. Determinació del sofre elemental

El sofre elemental s'ha analitzat seguint el mètode de Barlett i Skoog (1954) que consisteix en una determinació mitjançant cianolisi (formació de tiocianat, SCN^-). Es filtrava la mostra amb un filtre de membrana Sartorius de 0,1 μm de porus i es rentava en la mateixa torreta de filtració amb aigua destil·lada. El filtre era introduït en un tub d'assaig que contenia 2 mL de H_2O destil·lada, 0,1 mL de $NaCN$ 1 % p/v i 0,1 mL de tampó Tris (pH > 10). S'agitava el tub durant 15 minuts en un bany maria a 80 °C. Posteriorment s'hi afegia aigua fins a un volum final de 9 mL afegint finalment 0,5 mL de $Fe(NO_3)_3$. El resultat es un complex com el descrit a l'apartat 2.4.5.2 amb la diferència que en aquest cas el color desenvolupat és proporcional al sofre elemental que contenia la mostra (en forma de SCN^-) i no al ferro, que actuaria d'indicador. Es llegeix a 480 nm immediatament. Per a preparar el nitrat fèrric es dissolen 300 g de $Fe(NO_3)_3 \cdot 9 H_2O$ en 400 mL d'aigua destil·lada i 400 mL de HNO_3 al 55 % v/v i s'enrasa a 1 L.

2.6. DETERMINACIÓ DELS SUCRES TOTALS

La determinació de sucres totals es va fer utilitzant el reactiu de l'antrona (Herbert et al., 1971). Aquest reactiu es prepara dissolvent i agitant en fret 200 mg d'antrona en 5 mL d'etanol absolut. En acabar s'afegeixen 90 mL de àcid sulfúric al 75 % (v/v) en aigua, mesclant bé i deixant-lo refredar en aigua i gel.

Per l'anàlisi, es centrifugaven 10 mL de cultiu i es resuspensia el *pellet* amb 1 mL d'aigua destil·lada. Posteriorment s'afegien 5 mL del reactiu de l'antrona fred; la mescla es posava durant 10 minuts al bany maria amb aigua bullint. Passat aquest temps es posaven els tubs una altra vegada en l'aigua/glaç, i una vegada fret es mesurava l'absorbància a 625 nm. Els patrons es realitzaven simultàniament amb glucosa a partir d'una solució mare de 1000 µ/mL.

2.7. MICROSCÒPIA

2.7.1. Microscòpia òptica

La visualització al microscopi òptic de la unió del ferro amb cèl·lules de *Chlorobium phaeobacteroides* es va portar a terme amb un microscopi OLYMPUS VANOX-T AH-2 mitjançant la utilització de la reacció de Turnbull. Aquesta tècnica consisteix en la formació de blau de Turnbull (ferricianur ferrós) i s'ha aplicat a suspensions bacterianes a partir del procediment descrit a Nezelof et al. (1975), el qual està pensat per a teixits animals i vegetals prèviament tallats i fixats. El reactiu es prepara mesclant en una proporció 1:1 una solució de ferricianur potàsic al 2 % p/v i una altra de HCl 2%.

Després d'afegir una concentració 1 mM al cultiu bacterià, aquest es renta repetides vegades mitjançant la centrifugació i posterior resuspensió en aigua destil·lada. Seguidament s'afegia el reactiu, sempre acabat de preparar, i es deixava reaccionar per espai de 15 a 30 minuts. Finalment es repetia el procés de rentat, i es col·locava la mostra en portaobjectes recoberts per una fina capa d'agar net solidificat.

2.7.2. Microscòpia electrònica.

L'estudi al microscopi electrònic de la relació física existent entre el ferro/FeS i la membrana externa dels bacteris fototròfics del sofre es va portar a terme al microscopi electrònic d'escandallatge i al microscopi de transmissió. Per l'estudi al microscopi electrònic de transmissió s'han comparat dos tractaments (FeS i Ferritina) amb mostres sense tractar (control).

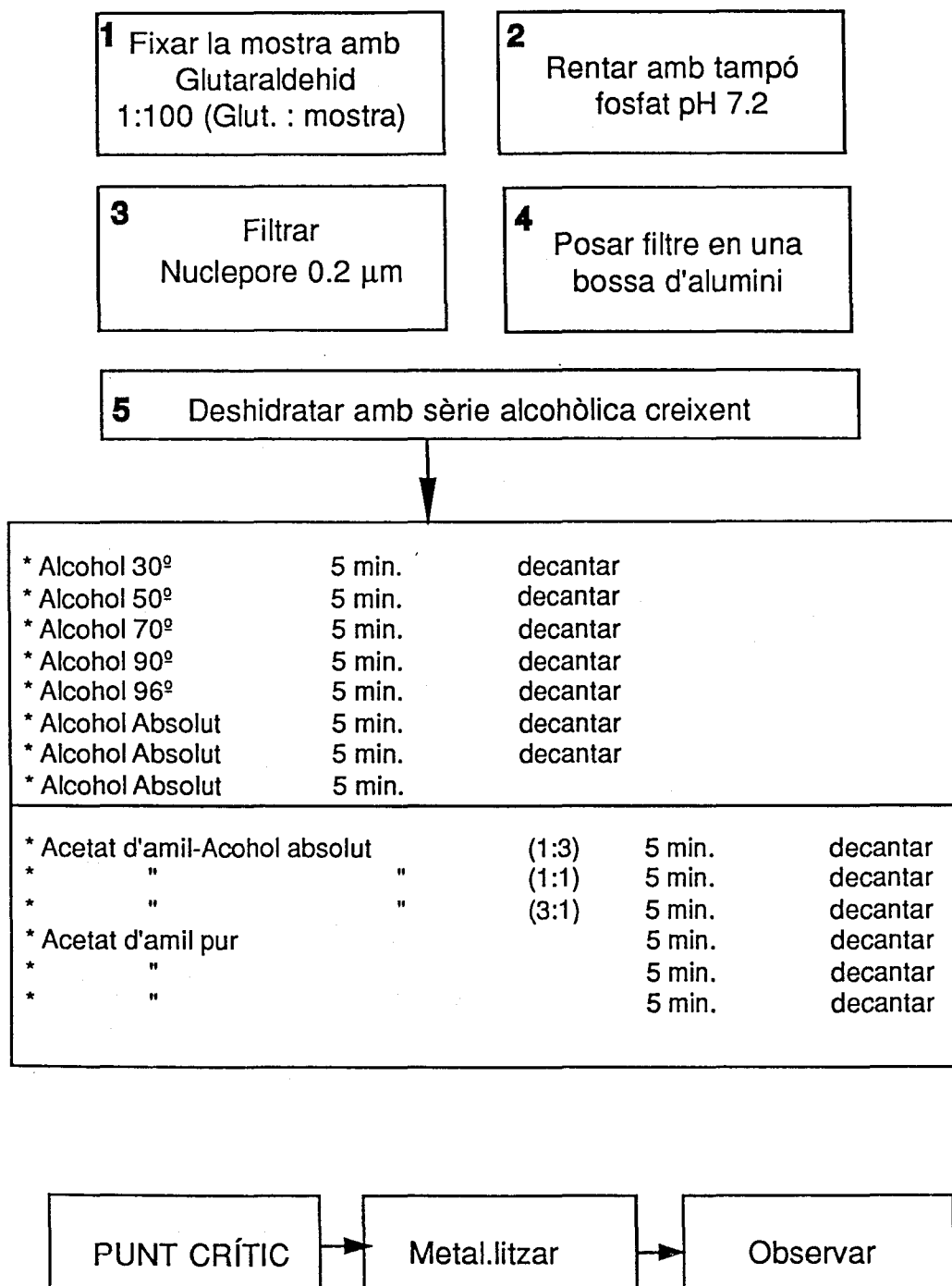


Figura 2.6. Protocol seguit en la preparació de mostres per a la seva observació al microscopi electrònic d'escandallatge. **Figure 2.6.** Preparation of samples for the observation at the Scanning Microscope.

Tractament 1: Cèl.lules crescudes amb Fe^{2+} al medi de cultiu. S'afegia un excés de H_2S abans d'efectuar el punt crític.

Tractament 2: Cèl.lules crescudes amb medi sense ferro. S'afegia Ferritina (10 a 20 uL) abans d'efectuar el punt crític.

2.7.2.1. Microscopi electrònic d'escandallatge

S'ha utilitzat un microscopi HITACHI S-570. Les mostres eren fixades amb glutaraldehyd 1 %, rentades amb tampó fosfat, deshidratades i portades a punt crític segons es mostra esquemàticament a la figura 2.6.

2.7.2.2. Microscopi electrònic de transmissió

Per a la microscòpia de transmissió s'han seguit les tècniques convencionals de fixació, inclusió i tinció (Santader, 1968). Les mostres es fixaven amb Karnovsky 0,1 M, essent rentades amb tampó cacodilat ph 7,2 abans dels seu post-fixat amb tetraòxid d'osmi. El microscopi emprat fou un HITACHI HV12A.

2.8. MÈTODES ESTADÍSTICS.

Per al tractament estadístic de les dades, presentat al capítol 3, s'han calculat aquells valors de les variables que siguin representatius de cada sortida i de cada cubeta. Així, s'han calculat les mitjanes ponderades de variables com temperatura, pH, redox, conductivitat. Altres variables, especialment aquelles que s'expressen amb concentració (nutrients, oxigen, ferro i sulfhídric), s'han integrat fins a valors equivalents de fondària a fi i efecte que siguin comparables dins una mateixa cubeta i entre diferents cubetes.

Els càlculs dels paràmetres d'absorció de ferro s'ha fet utilitzant el paquet estadístic BMDP mitjantçant una regressió no linial (Derivative-free Nonlinear Regression) segons les especificacions recollides en l'apartat B de l'annex de la present memòria. El programa es feia córrer en un Micro-Vax del Centre de Càlcul de l'Estudi General de Girona. S'han ajustat les dades experimentals a una corba de saturació de la forma

$$Y = \frac{Y_{\max} \cdot X}{K_s + X} + Y_0$$

on Y és la concentració específica de ferro per a cada addició X , Y_0 és el contingut basal de ferro de les cèl.lules i Y_{\max} és la màxima concentració específica de ferro.

Igualment s'ha utilitzat l'esmentat paquet estadístic per a ajustar les dades de camp obtingudes a la cubeta IV al model matemàtic construït per a descriure la dinàmica del ferro.

2.9. DETERMINACIÓ DEL FeS AMB ELECTRODE SELECTIU

Per als experiments de cinètica d'utilització del FeS com a donador d'electrons, mesurar l'activitat bacteriana era un problema metodològic important doncs calia anar monitoritzant la desaparició de FeS al llarg del temps, una substància que en realitat no està dissolta sinó que es tracta d'un precipitat que es manté en suspensió amb agitació magnètica.

L'anàlisi del FeS comporta un seguit de problemes analítics derivats de la pròpia naturalesa com a precipitat del compost. En primer lloc el fet de no ser una substància dissolta obligava a adoptar el conveni de parlar de "concentració" de FeS com a la quantitat de precipitat per unitat de volum. D'altra banda, l'anàlisi del FeS remanent a cada temps de l'experiment es podia fer de diferents maneres:

- Filtrat de la mostra i anàlisi del ferro retingut. La idea era analitzar el ferro particulat que quedava retingut en els filtres assumint que el ferro corresponent al FeS ja utilitzat quedava en forma de Fe^{2+} en el medi. Els problemes d'aquest mètode són bàsicament dos:

(a) Una fracció important del ferro queda lligat físicament a les cèl.lules de manera que el ferro quedarà sempre retingut en el filtre tant en forma de FeS com per estar unit a les cèl.lules.

(b) Les mides dels flòculs de FeS no són constants sinó que hi ha una determinada proporció que és més petita que la mida de porus utilitzada (Davison, 1980).

- Anàlisi del sofre elemental resultant de la utilització del S^{2-} bacteriana. El problema deriva del fet que quan la concentració externa de S^{2-} es molt baixa s'observa un consum simultani de sofre elemental (Van Gernerden i Beeftink, 1978) de manera que el que es troba en el medi és inferior al que hom podria esperar.

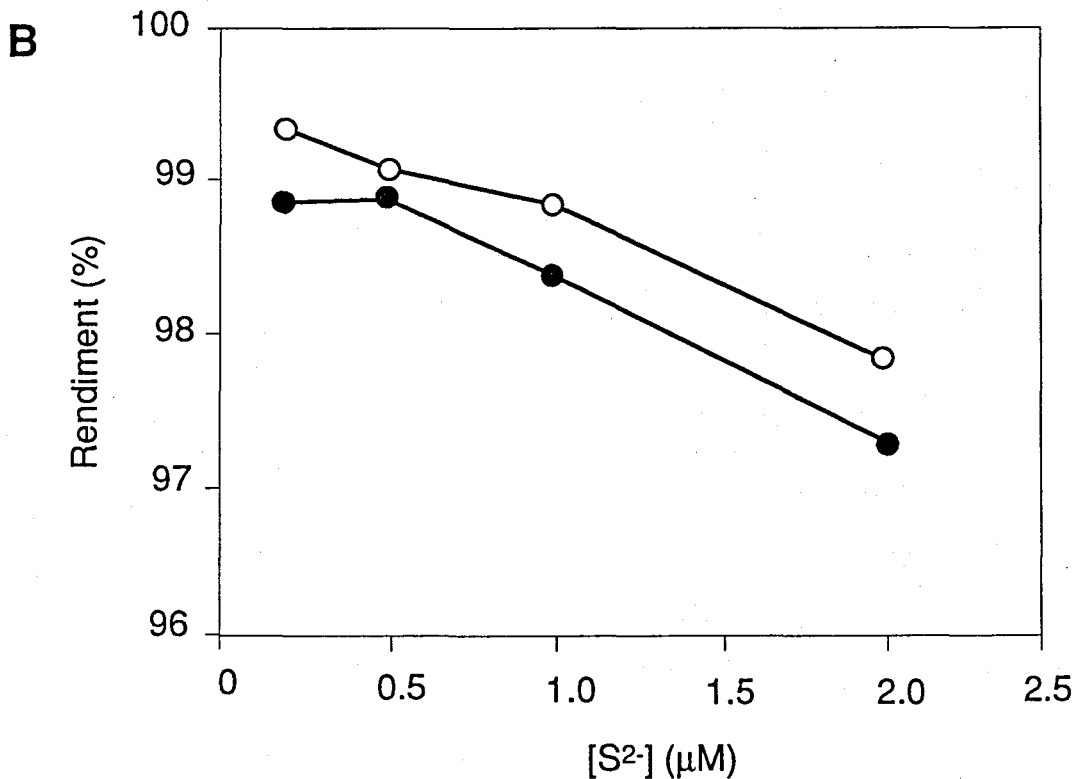
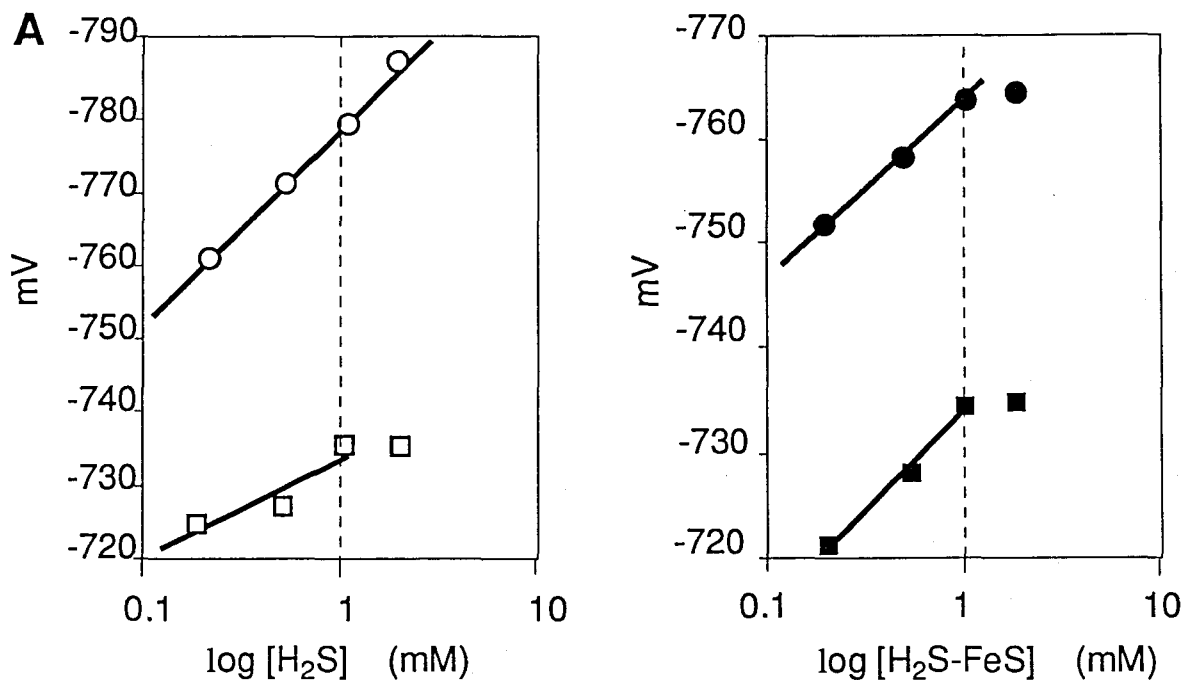


Figura 2.7. A: Resposta de l'electrode selectiu de sulfurs en funció del contingut en FeS d'una mostra. B: rendiment en relació a la concentració equivalent de l'ió sulfur, en dos dies diferents. **Figure 2.7.** A: Response of Sulfide selective electrode to FeS containing samples. B: percentage in relation to the same concentration of free sulfide in two different days.

Taula 2.4. Preparació d'una corba de calibració per a l'anàlisi de FeS amb electrode selectiu de S²⁻

TUB	mil.litres				Conc	
	Fe(0,01M)	H ₂ S 0,1M	H ₂ O dest.	SAOB II	(mM)	(mg/L)
1	2,0	0,2	7,8	10	2,0	176
2	1,0	0,1	8,9	10	1,0	88
3	0,5	0,05	9,5	10	0,5	44
4	0,2	0,02	9,8	10	0,2	22
5	0,1	0,01	9,9	10	0,1	11

- Anàlisi del sulfur total mitjançant l'electrode selectiu. La idea de mesurar el FeS es basa en l'observació feta al laboratori que l'electrode selectiu de sulfur donava una resposta proporcional a la "concentració" de FeS. Per a comprovar aquest fet es va preparar un patró amb concentracions conegudes de FeS segons la taula 2.4.

A la figura 2.7 es pot apreciar com la resposta al FeS és globalment inferior (en mV) a la resposta al S^{2-} , però mantenint la proporcionalitat. S'observa com per sobre de 1 mM es perd aquesta proporcionalitat. La concentració de FeS en el cultiu experimental era de 44 mg.L^{-1} (equivalent a $0,5 \text{ mM}$ de S^{2-}), dintre de la zona lineal de resposta de l'electrode. A més, la resposta al llarg del temps sembla presentar una tendència a coincidir amb la resposta a les mateixes concentracions de sulfur lliure, presentant ambdues una baixada molt similar en el seu rendiment, el qual és depenent de la concentració de S^{2-} .

2.10. MESURA DE L'ALLIBERAMENT DE Fe^{2+} DES DEL SEDIMENT

Es varen prendre mostres de sediment de la Cubeta IV, corresponents a 9, 12 i 14 metres de fondària en 3 "cores" o cates de 20 mm de llum. Les mostres es varen prendre a l'hivern, quan la superfície del sediment està oxidada. Els cores s'incubaren a $20 \text{ }^\circ\text{C}$ preservats de la llum. Les mostres es prenen diàriament amb una xeringa instal·lada al tub a 5 cm de la superfície del sediment. La columna d'aigua per damunt del sediment era de 40 cm reemplaçant-se l'aigua que era extreta a cada mostra. Això suposava una petita dilució de 1/1,1 aproximadament que es corregia més tard en els càlculs. A la figura 2.8 es mostra un esquema dels tubs i del procediment metodològic seguit. Les variables mesurades eren pH, Eh i concentració de Fe^{2+} a l'aigua.

2.11. PURIFICACIÓ I AÏLLAMENT DELS BACTERIS FOTOTRÒFICS DEL SOFRE.

La tècnica d'aïllament de bacteris fototròfics esta basada en la descrita per Van Niel (1971).

2.11.1. Enriquiment

Per l'enriquiment de les poblacions de bacteris fototròfics a partir de mostres naturals, es posaven a incubar varies ampolles de 125 mL tancades hermèticament, a diferents condicions de llum i sulfhídric. Aquestes dues variables determinen el desenvolupament diferencial d'unes espècies o altres, en cas que la mostra sigui heterogènia en la seva composició d'espècies. Com a font de llum s'utilitzaven bombetes de tungstè. Aquests enriquiments asso-

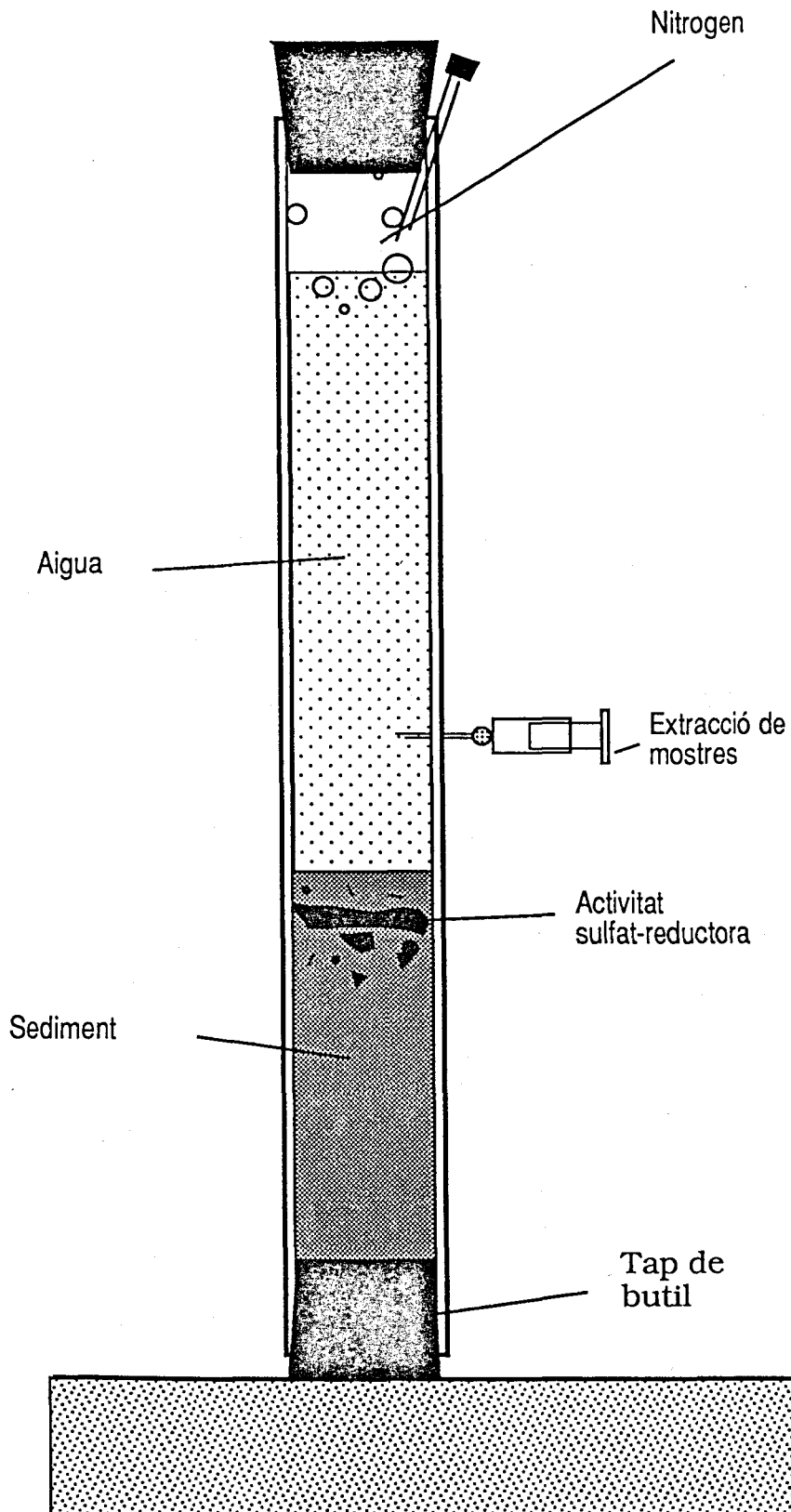


Figura 2.8. Sistema utilitzat per a mesurar la cinètica d'alliberament de Fe^{2+} d'una mostra de sediment. **Figure 2.8.** Measurement of the kinetics of ferrous iron release from a sediment core.

leixen una puresa superior al 99 % en bacteris fototròfics segons les comprovacions fetes al laboratori.

2.11.2. Aïllament

Per l'aïllament dels bacteris s'utilitzava medi semisòlid amb agar net i medi Pfennig, quina composició es descriu més avall. Es rentaven uns 30 g d'agar-agar agitant amb 2 L d'aigua durant 20 minuts. Posteriorment es deixava sedimentar l'agar i es llençava, per decantació, l'aigua amb les impureses. L'operació es repetia 5 vegades més. L'agar, una vegada net i amb una concentració final aproximada del 20-25 % es fonia i es distribuïen 3 mL en tubs els quals eren posteriorment esterilitzats a l'autoclau i tapats hermèticament.

El procediment consisteix en preparar de 5 a 6 tubs, fondre l'agar dur, portar-ho a 45 °C i afegir 7 mL de medi Pfennig per aconseguir el medi semisòlid. S'inoculava el primer tub amb 0,5 a 1 mL de l'enriquiment, fent una sèrie de dilucions fins l'últim tub. L'agitació dels tubs, una vegada inoculats es feia amb la màxima suavitat per tal d'evitar l'oxidació del medi. Una vegada inoculats, els tubs es refreden en un bany d'aigua, afegint una capa d'uns 3 cm de parafina fosa. Finalment es posa nitrògen a la capa d'aire que hi queda i es tapa el tub amb un tap de butil. Els tubs es mantenen 24 hores a les fosques abans d'incubar-ho a la llum

Una vegada desenvolupades les colònies, s'escullen les que estiguin ben separades i després de retirar la parafina amb calor, s'aspiren amb un capilar de vidre (fet a la flama a partir d'una pipeta *Pasteur*) i s'inocula en un tub de 14 mL amb medi fresc.

Aquest procés convé repetir-lo a partir de les colònies que creixin al tub, per tal d'assegurar la puresa del cultiu.

2.11.3. Identificació dels bacteris fototròfics del sofre

La determinació dels bacteris fototròfics es feia a partir tant de les característiques morfològiques que presentaven al microscopi òptic com de la seva composició qualitativa en pigments, procedint segons que s'ha explicat més amunt.

Per a la determinació de les espècies que s'anaven aïllant dels ambients estudiats s'han fet servir les característiques recollides a la taula 4.2 (capítol 4). Totes les espècies aïllades a l'estany de Banyoles es troben recollides en aquesta taula.

2.12. CULTIU DELS BACTERIS FOTÒTROFICS DEL SOFRE

Els cultius purs dels bacteris fototròfics del sofre creixien en medi Pfennig (1965), modificat per Van Gernerden i Beeftink (1981). Aquest medi està compost pels següents elements:

A. Solució de sals minerals

H ₂ O destil.lada	1000 mL
KH ₂ PO ₄	0,34 g
NH ₄ Cl	0,40 g
KCl	0,34 g
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0,47 g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,30 g

B. Solució de micronutrients SL-10.

H ₂ O destil.lada	100 mL
FeCl ₂ · 4H ₂ O	0,15 g
ZnCl ₂	7 mg
MnCl ₂ · 4H ₂ O	10 mg
H ₃ BO ₃	0,6 mg
CoCl ₂ · 6H ₂ O	19 mg
CuCl ₂ · 2H ₂ O	0,2 mg
NiCl ₂ · 6H ₂ O	0,4 mg
NaMoO ₄ · 2H ₂ O	3,6 mg
HCl (25 %)	1 mL

S'ajusta el pH a 6,0 amb NaOH. La solució s'esterilitza a l'autoclau, podent ser conservada durant mesos.

C. Solució font de carboni.

H ₂ O destil.lada	25 mL
NaHCO ₃	3 g

Esterilitzar en ampolles tancades hermèticament.

D. Vitamina B₁₂.

0,002 % p/v en aigua destil.lada. És un producte termolàbil i per tant cal esterilitzar-lo per filtració.

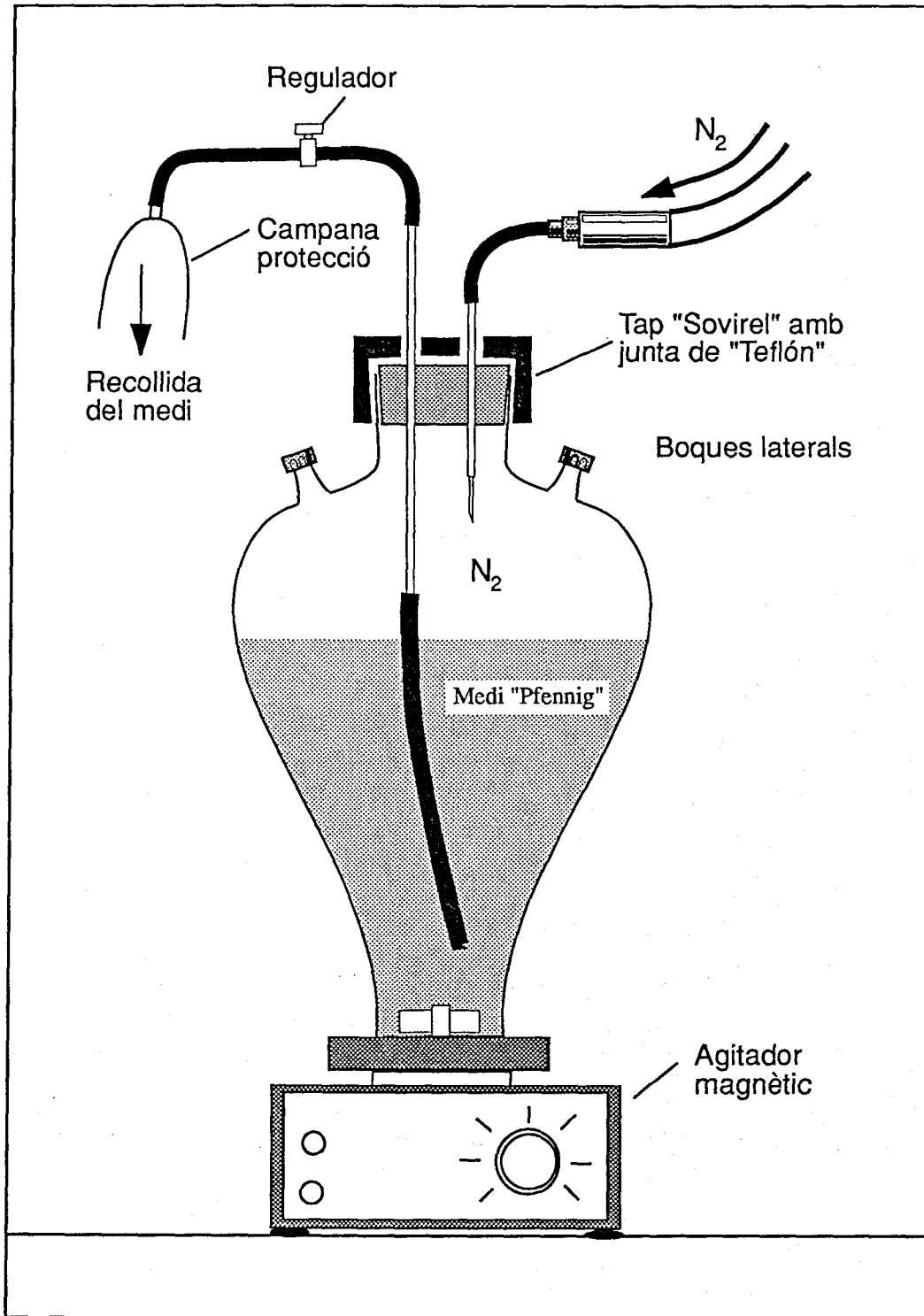


Figura 2.9. Sistema per preparar medi Pfennig per bacteris fototròfics en condicions anòxiques. **Figure 2.9.** Device to prepare Pfennig's culture medium for phototrophic bacteria under anoxic conditions.

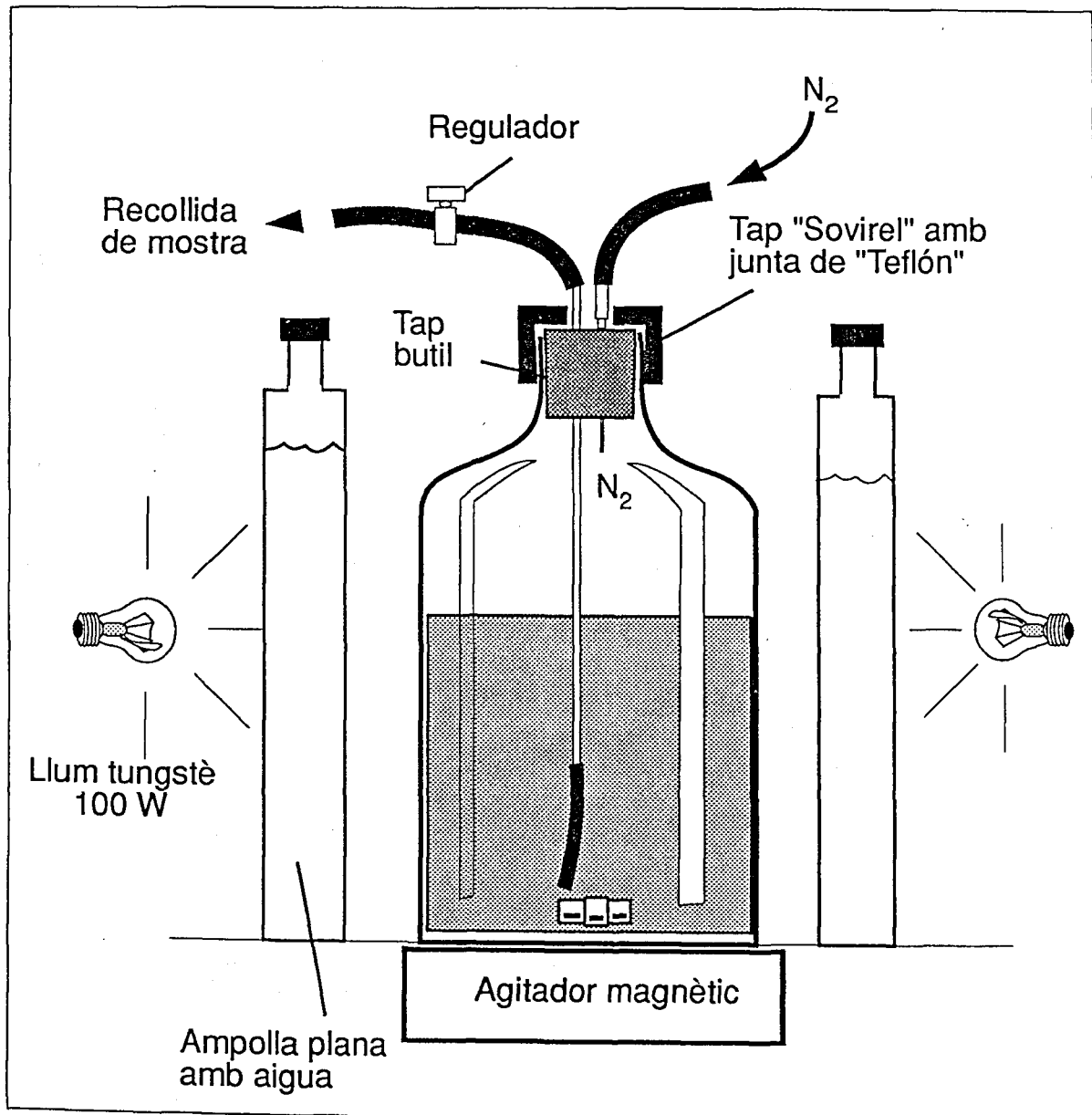


Figura 2.10. Botella de cultiu de bacteris fototròfics del sofre. **Figure 2.10.** Batch culture bottle of fototrofic bacteria.

E. Solució de H₂S.

H ₂ O destil·lada	
i desairejada	300 mL
Na ₂ S · 9H ₂ O	7,38 g
NaCO ₃ anhidre	2,79 g

Es reparteix en tubs hermèticament tancats.

El medi es preparava en un recipient expressament dissenyat (figura 2.9) amb una capacitat de 2 L. Una vegada preparada la solució A en el recipient s'esterilitzava a l'autoclau i es deixava refredar sota pressió de CO₂ estèril, per tal de mantenir-lo anòxic. Una vegada la temperatura ha baixat de 40°C s'afegeix 1 mL de SL₁₀ (solució B) i 12,5 mL de la solució C. Posteriorment s'afegeix el sulfhídric (solució E); 1 tub si el medi és per Cromatiàcies i 2 si és per Clorobiàcies. El pH s'ajusta amb NaCO₃ 2 M estèril a 7-7,2 en el primer cas i a 6,7 en el segon. Finalment s'afegeix 1 mL de la solució D i es distribueix en botelles prèviament esterilitzades.

2.13. CREIXEMENT DE BACTERIS FOTOTRÒFICS DEL SOFRE AMB FeS

El medi emprat per a estudiar la utilització del FeS pels bacteris fototròfics del sofre era una variació del medi "Pfennig" descrit a l'apartat 2.11. Es preparava 1 litre de cultiu en una botella tancada hermèticament sota pressió de nitrogen (figura 2.10) i es feia un inòcul d'un cultiu en creixement exponencial de la soca a assajar. Quan el cultiu estava crescut i havia esgotat tot el H₂S i el S⁰ del medi es procedia a l'inòcul del FeS de la següent manera:

- Afegiem 5mL d'una solució 0.1 M de H₂S per a obtenir una concentració final de 0.5 mM.
- Al Fe²⁺ s'afegia en excés (1 mM aproximadament) a partir d'una solució al 4% de sal de Möhr, (sulfat ferrós amònic, (NH₄)₂FeSO₄). La quantitat afegida (uns 10 mL) era filtrada prèviament amb un sistema de filtració *Sweenex*.
- El cultiu es deixava una nit (12 hores) en agitació contínua a les fosques. Aquest tractament permet la reacció complerta entre el ferro i el sulfhídric.
- La incubació es feia a 20°C. Es prenen mostres per duplicat a intervals de 3 hores.

3.

***Estudi limnològic
de les cubetes
C-III, C-IV i C-VI***

3.1. INTRODUCCIÓ

L'Estany de Banyoles és un sistema de cubetes múltiples que corresponen a diferents enfonsaments (poljé). Cada una d'elles està separada de la resta amb un determinat grau d'aïllament, que li confereix un comportament limnològic propi. El present estudi es centra fonamentalment en els processos fisico-químics i biològics que tenen lloc a C-IV una de les 4 cubetes que formen l'anomenat lòbul Nord de l'Estany.

En aquest capítol es presenta l'estudi del marc físic on tenen lloc tots els processos relacionats amb el ferro i el sulfhídric i els bacteris fototròfics estudiats més endavant, incluint-hi fonamentalment aspectes físics, com poden ser les precipitacions i la temperatura, i aspectes químics. La proximitat a C-IV de dues cubetes amb característiques similars (les cubetes III i IV) ha permès fer un estudi comparat dintre d'un mateix llac, la qual cosa pot ajudar a comprendre millor els processos que hi tenen lloc.

Una de les característiques més peculiars de l'estany de Banyoles és l'entrada d'aigua per determinades àrees situades al fons. Aquest flux manté material margós en suspensió (sediment en suspensió) el qual es comporta físicament com un llit fluiditzat particulat (Davison i Harrison 1971, Casamitjana 1989). Aquestes àrees es consideren limnològicament com una elongació de la columna d'aigua, posseint propietats líquides i característiques fisico-químiques que afecten la resta de la columna d'aigua. La temperatura del sediment en suspensió és més elevada que la de l'hipolimnion i el monimolimnion situat immediatament a sobre, per la qual cosa l'Estany és contínuament escalfat per l'aigua que entra (Casamitjana et al, 1988). Quan el flux d'entrada disminueix, la interfase entre l'aigua i el sediment en suspensió es desplaça cap amunt disminuint la densitat d'aquest i augmentant la porositat del llit fluiditzat (Roget i Casamitjana, 1987).

C-IV és una cubeta meromíctica que perd parcialment la seva estratificació química a causa de la mescla hivernal, la qual cosa determina en gran manera els processos químics que tenen lloc al monimolimnion.

La estabilitat meromíctica es defineix com el treball necessari per mesclar el monimolimnion. Aquest concepte és especialment interessant en el cas de les meromixis crenogèniques definit-se com el treball que es necessita per a mantenir la quimioclina a un nivell constant (Hutchinson, 1957).

Al present capítol es presenten els resultats del seguiment, durant un cicle anual, dels principals paràmetres físics (llum, temperatura, conductivitat i densitat), químics (pH, potencial redox, nitrats, nitrits, amoni, sulfhídric i ferro) i biològics (poblacions algals) de les tres cubetes esmentades, deixant la dinàmica poblacional de bacteris fototròfics del sofre per al següent capítol on s'estudia de manera específica.

3.2. RESULTATS

3.2.1. Paràmetres meteorològics

És un fet evident que la majoria dels paràmetres limnològics que caracteritzen un llac, així com els processos derivats que hi tenen lloc, estan influenciats, en última instància per la meteorologia que afecta l'àrea geogràfica on aquest llac es troba situat. Així, a l'estany de Banyoles, la mescla i l'estratificació venen determinats pel règim dels vents que bufen a la tardor i per la insolació (energia calorífica) que escalfa les capes més superficials durant la primavera i l'estiu. Els desenvolupament de poblacions fitoplanctòniques està relacionat amb la quantitat de nutrients disponibles a l'aigua, els quals a la seva vegada depenen, a l'estany de Banyoles de la pluviositat. La pluja per rentat dels camps i lixiviació, arrossega part dels adobs cap a l'Estany. D'altra banda, el temps de recanvi de l'aigua dependrà també de la pluviositat, doncs el freàtic que alimenta subterràniament l'Estany és tant més cabalós quant més intenses són les pluges.

Per tant, es fa necessari conèixer a fons el marc dintre del qual es mouen les diferents variables meteorològiques que afecten l'àrea geogràfica que interessa l'Estany (Alta Garrotxa i conca de recepció d'aigües). Això pot ajudar a interpretar part dels processos que s'hi pugui descriure.

En el present apartat es presenten dades recollides per l'Estació Meteorològica de l'Aeroport de Girona, situat aproximadament a 30 Km de l'Estany.

3.2.1.1. Vents

La figura 3.1 mostra la composició percentual del vent, en la seva força i direcció, amb valors promitjats per un període de 10 anys. Es pot apreciar que els vents provenen majoritàriament del nord (Tramuntana) i del sud-sudoest (Migjorn) amb valors mitjans de força de 18 i 21.5 km·h⁻¹ respectivament. És remarcable el fet que l'estany de Banyoles està orientat en la direcció de l'eix Nord-Sud, just on la freqüència i la intensitat dels vents és més alta, per la qual cosa la incidència dels vents és necessàriament més intensa que en el cas que estigués de través (orientat en l'eix Est-Oest). A més, aquest fet es veu accentuat per l'absència d'arbres a la zona Nord, els quals podrien disminuir la incidència dels vents. Estacionalment, el vents més forts es presenten a finals de la tardor i a la primavera, amb velocitats que, en el cas de la Tramuntana, poden arribar fins a 80 Km·h⁻¹.

La mescla hivernal de la columna d'aigua a l'estany de Banyoles s'explica doncs, tant per la baixada de la temperatura de l'hipolimnion com per la

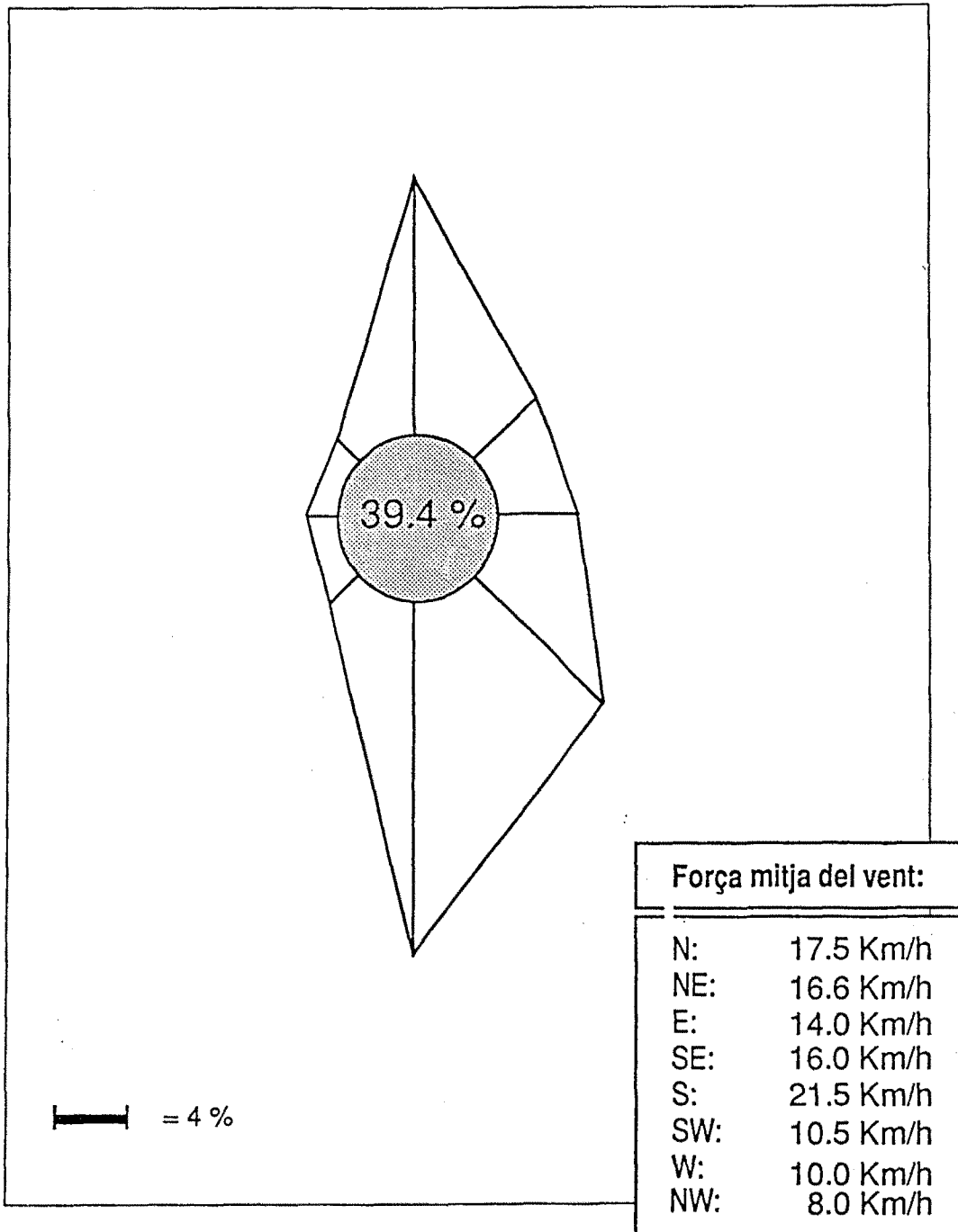


Figura 3.1. Valors promitjats per un període de 10 anys de les direccions i força dels vents. El valor central correspon al percentatge de calmes.
Figure 3.1. Mean values of wind direction and speed for a period of 10 years. Calm (%) is expressed in central circle

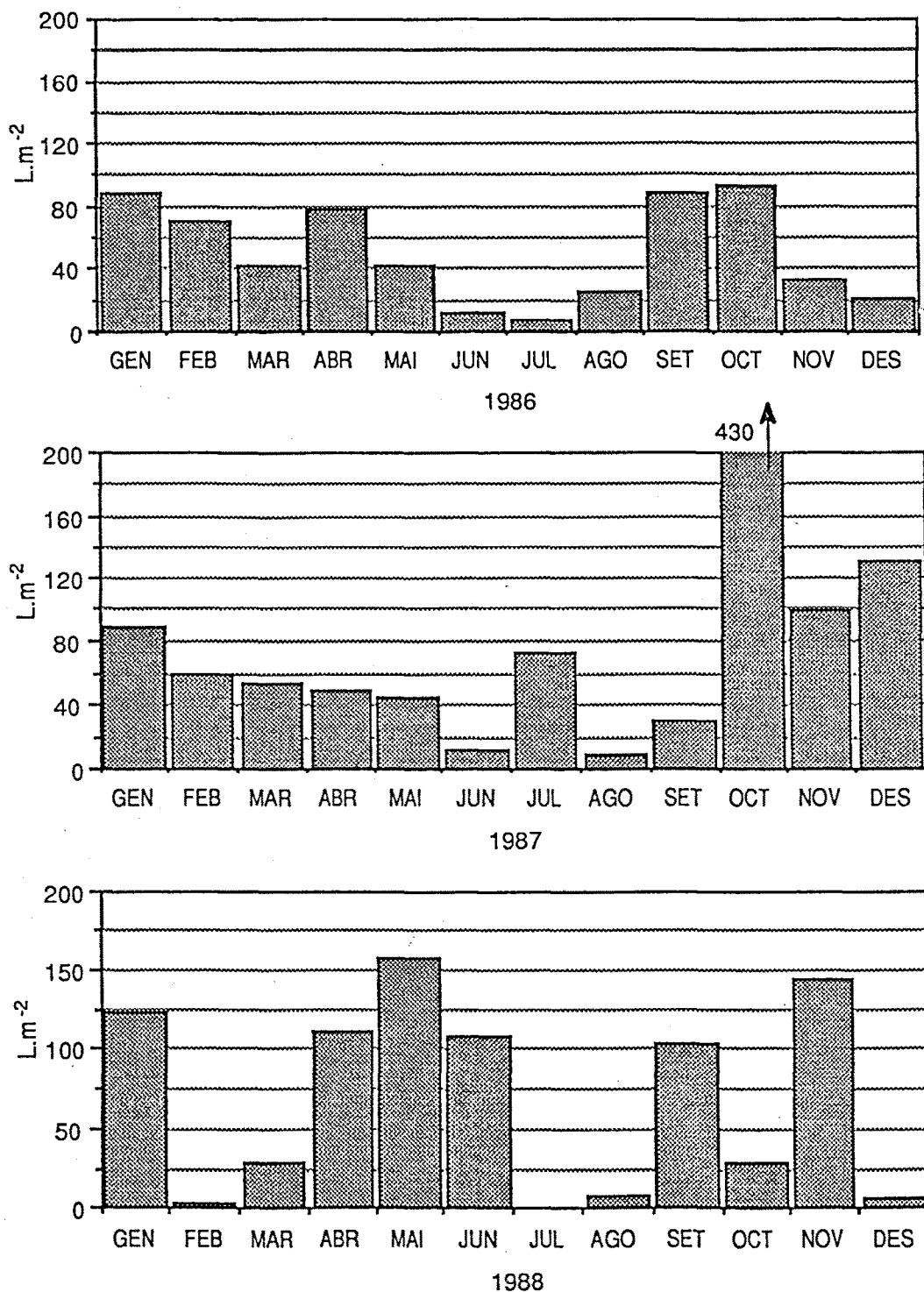


Figura 3.2. Precipitacions durant tres cicles anuals. Dades de l'Estació meteorològica de l'Aeroport de Girona- "Costa Brava". **Figure 3.2.** Rainfall during three annual cycles. Data from the meteorological station of the Girona Airport- "Costa Brava".

orientació longitudinal de l'Estany en el mateix eix que els vents més freqüents i més forts.

3.2.1.2. *Precipitacions*

Les precipitacions enregistrades a la zona de Banyoles, especialment aquelles recollides a la conca de recepció d'aigües superficials, determinen en gran mesura la càrrega de nutrients que rep l'Estany, degut al rentat de part dels adobs dels camps de conreu adjacents. Per tant, després d'unes pluges sempre cal esperar una resposta de l'Estany en forma de creixement de poblacions algals.

A la figura 3.2 es mostra la distribució mensual de pluges durant els anys 1986, 1987 i 1988. La zona de Banyoles, com passa a la major part del litoral català, està sotmesa a un règim pluviomètric clarament mediterràni amb fortes pluges a la primavera i tardor (temporals de llevant) i secada a l'estiu i gran part de l'hivern. Cal remarcar les pluges d'octubre de 1987, amb valors superiors als 400 l.m⁻², els quals poden considerar-se extraordinaris, atenent els valors mitjos d'anys considerats més "normals" (100 a 150 l.m⁻² al mes d'octubre). Durant 1988 també va ploure de manera intensa a la primavera enregistrant-se més de 150 l.m⁻² al més de maig i una mica més de 100 l.m⁻² als mesos d'abril i juny. Finalment, cal tenir en compte que les pluges recarreguen el freàtic que alimenta l'Estany, incrementant el flux d'entrada d'aigua.

3.2.1.3. *Temperatura*

A la figura 3.3 es recull la distribució dels valors mitjans de temperatura de cada mes durant els anys 1986, 1987 i 1988. Aquesta distribució es repeteix per als tres anys assenyalats, variant únicament els valors que aquestes prenen. Es destacable el fet que durant el gener de 1987 i el desembre de 1988, la mitjana de les temperatures mínimes estava per sota els 0 °C. Les baixes temperatures, juntament amb els vents són les causants de la mescla vertical de la columna d'aigua. A l'estany de Banyoles, aquesta es produeix generalment al mes de novembre coincidint amb una baixada brusca de les temperatures observable als tres anys representats, conjuntament amb l'entrada de vents de Nord (Tramuntana).

3.2.2. **Batimetria**

La figura 3.4 mostra la batimetria de l'estany de Banyoles. Es poden apreciar 6 cubetes amb 12 àrees ocupades per sediment en suspensió, corresponents al menys a 13 surgències, les quals es situen a la part més profunda de les esmentades cubetes (Moreno-Amich i Garcia-Berthou, 1989). Segons el seu

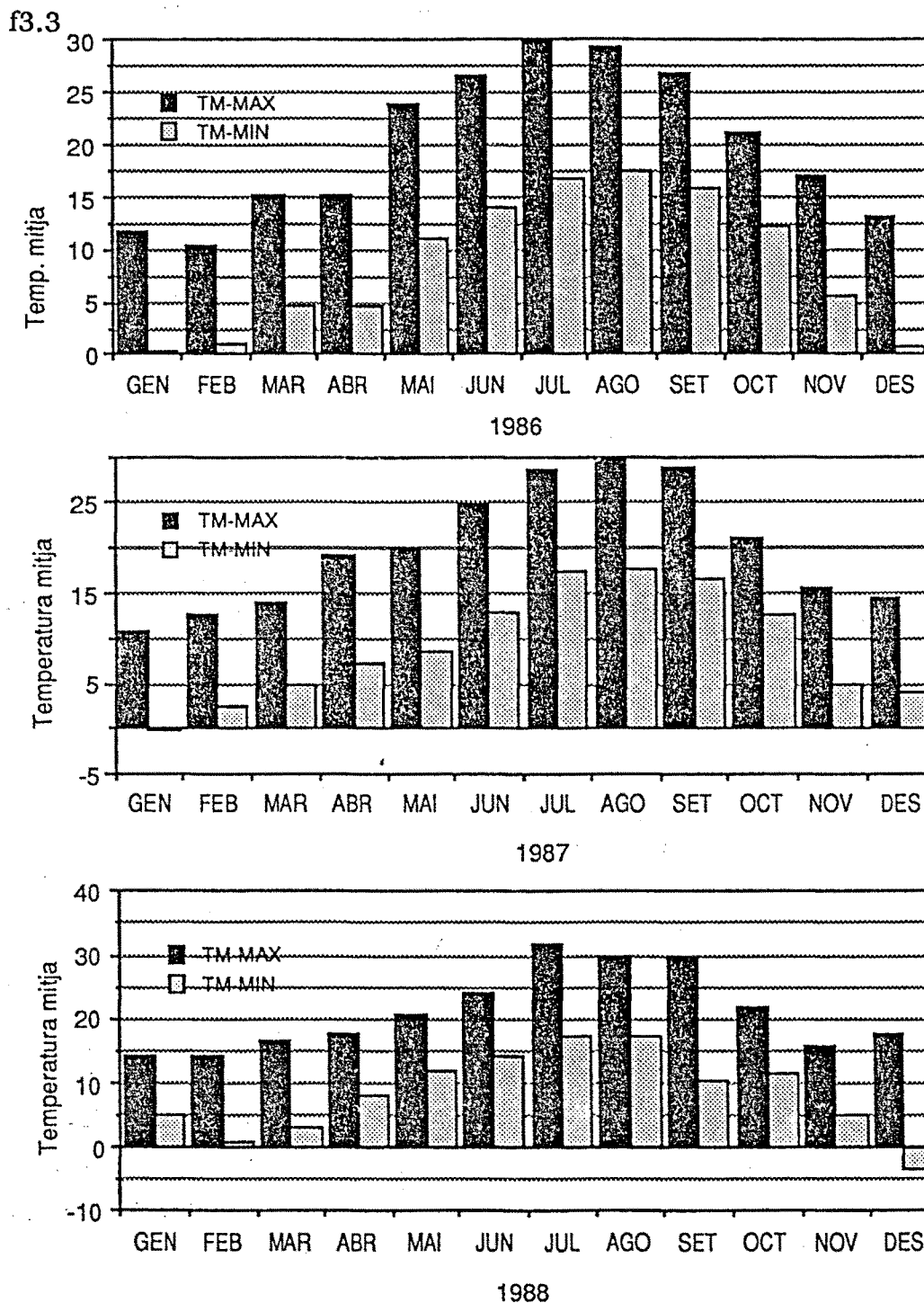
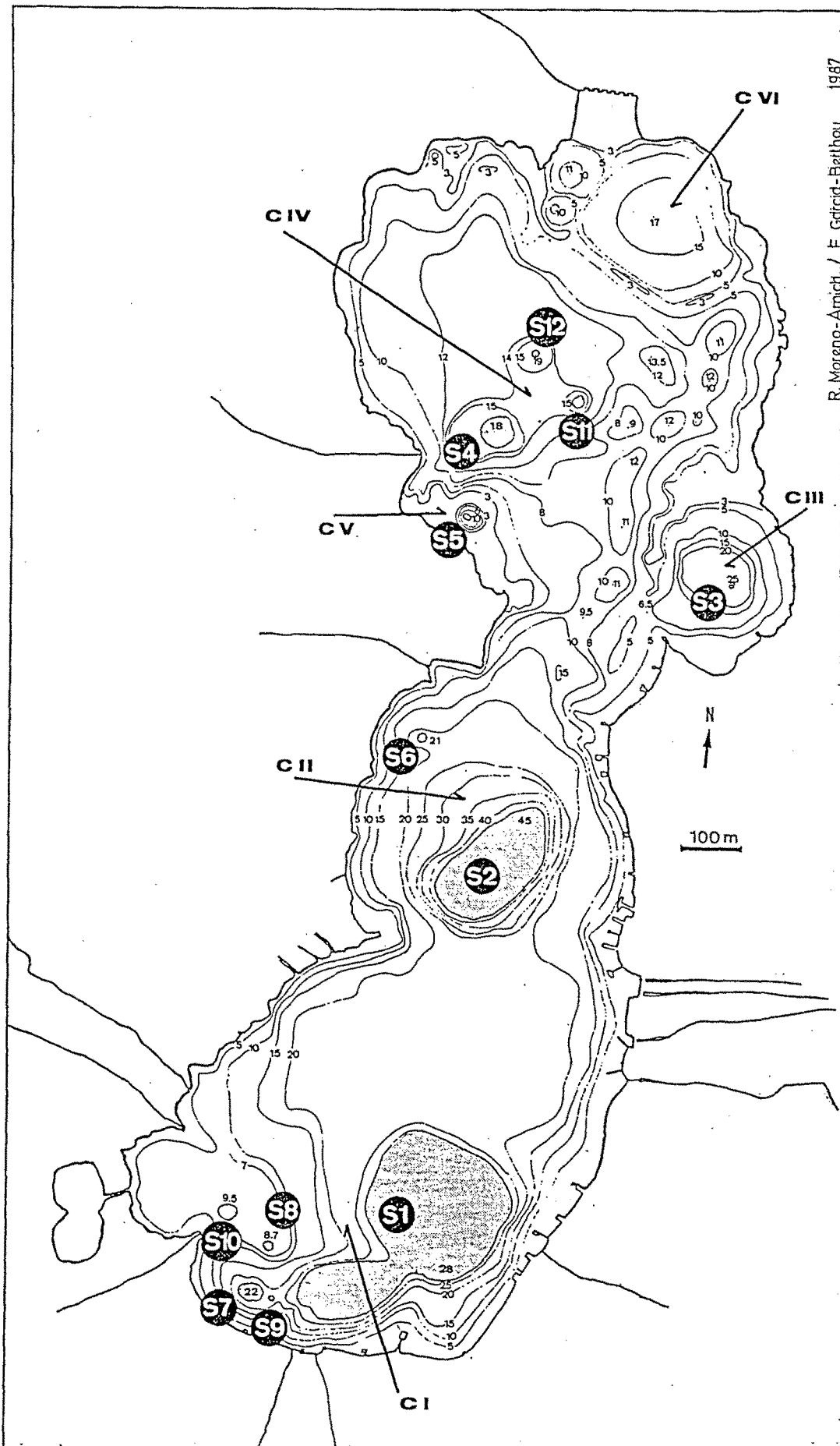


Figura 3.3. Temperatures mitjanes, màximes i mínimes (° C) durant tres cicles anuals. Dades de l'Estació meteorològica de l'Aeroport de Girona- "Costa Brava".
Figure 3.3. Maximal and minimal mean temperatures (°C) during three annual cycles. Data from the meteorological station of the Girona Airport- "Costa Brava".



R. Moreno-Amich / E. Garcia-Berthou. 1987

Figura 3.4. Mapa batimètric de l'Estany de Banyoles segons Moreno-Amich i Garcia-Berthou (1989). S'indiquen les surgències (S amb número aràbic) i les cubetes (C seguit d'una xifra romana).
Figure 3.4. Bathymetric map of Banyoles Lake, from Moreno-Amich and Garcia-Berthou (1989). Bottom springs (S with arabic numeral) and basins (C followed by a roman numeral) are indicated.

contorn, es distingeixen tres lòbuls. Un lòbul Nord, que estaria format per les cubetes III, IV, V i VI, un lòbul Central, on es localitza la cubeta II i un lòbul Sud que acolliria la cubeta I. El present estudi es centra en les tres cubetes principals del lòbul Nord, es a dir C-III, C-IV i C-VI.

3.2.2.1. *Cubeta III (C-III)*

La figura 3.5 recull la batimetria de C-III així com alguns perfils del seu fons realitzats amb ecosonda. Es tracta d'una cubeta circular, regular amb una surgència situada en posició central als 25 metres de fondària, variant en funció del flux d'entrada d'aigua (Casamitjana, 1989) que conté sediment en suspensió, el qual ocupa una xemeneia de 130 metres de fondària (Abellà, 1980). S'observa que és la cubeta més aïllada de les tres en estar envoltada per una barra de tres metres de fondària quedant una sortida de 6 metres al sudoest. L'entrada d'aigua sulfatada per la surgència fa que aquesta cubeta sigui meromíctica amb una capa d'aigua més conductora a partir dels 18-20 metres de fondària, la qual està permanentment aïllada, és anòxica i conté sulfhídric. La profunditat d'aquesta cubeta fa que aquesta capa no es mescli durant l'hivern, per bé que en anys extremadament freds i ventosos l'estructura meromíctica d'aquesta cubeta pot arribar a desaparèixer.

3.2.2.2. *Cubeta IV (C-IV)*

Al contrari que C-III, aquesta cubeta és de fons irregular, presentant tres surgències amb sediment en suspensió a la seva meitat Sud (S4, S11 i S12, per ordre de descobriment i de dimensions). A la figura 3.6 es mostra la batimetria d'aquesta cubeta, així com els perfils d'ecosondació que mostren cada una de les surgències esmentades. La primera surgència té el sediment en suspensió als 18 metres, amb petites oscil·lacions temporals en funció del flux. S11 és la surgència que es situa més amunt, amb el sediment en suspensió ocasionalment als 15 metres. Finalment S12 és la més petita i la que es troba a més fondària de les tres amb el sediment en suspensió als 19 metres. Aquests tres forats estan tancats per una mateixa isòbata de 14 metres que els situa a la mateixa cubeta. L'entrada d'aigües sulfatades per les surgències fa que C-IV sigui meromíctica igual que C-III, amb la diferència que, en ser menys profunda, es veu afectada anualment per la mescla vertical, sofrint una pèrdua parcial i posterior recuperació de la meromixi que la converteix en una de les cubetes més peculiars i interessants des d'un punt de vista limnològic de l'estany de Banyoles. A l'apartat de discussió es valora la importància de les característiques descrites a C-IV tant sobre la biologia del sistema com sobre el concepte d'estabilitat que tanca en sí mateixa el mot "meromixi". Finalment, cal remarcar l'existència d'una plana de 12 a 14 metres de fondària que ocupa pràcticament tota la meitat Nord de C-IV.

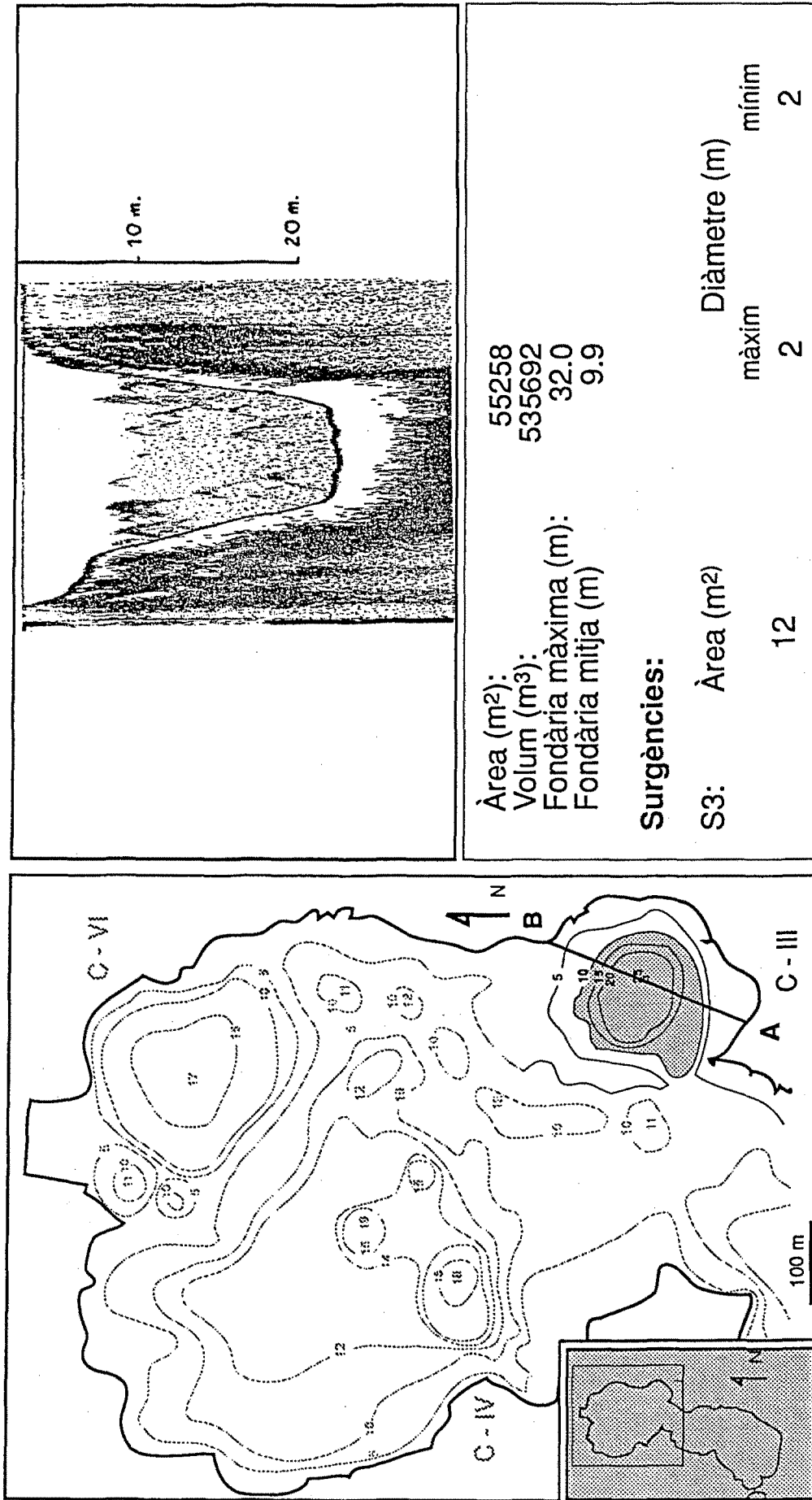


Figura 3.5. Batimetria, perfils d'ecosondació i principals paràmetres morfomètrics de la cubeta III (C-III).
Figure 3.5. Bathymetric map, echo-sounding profiles and main morphometrical parameters of basin III (C-III).

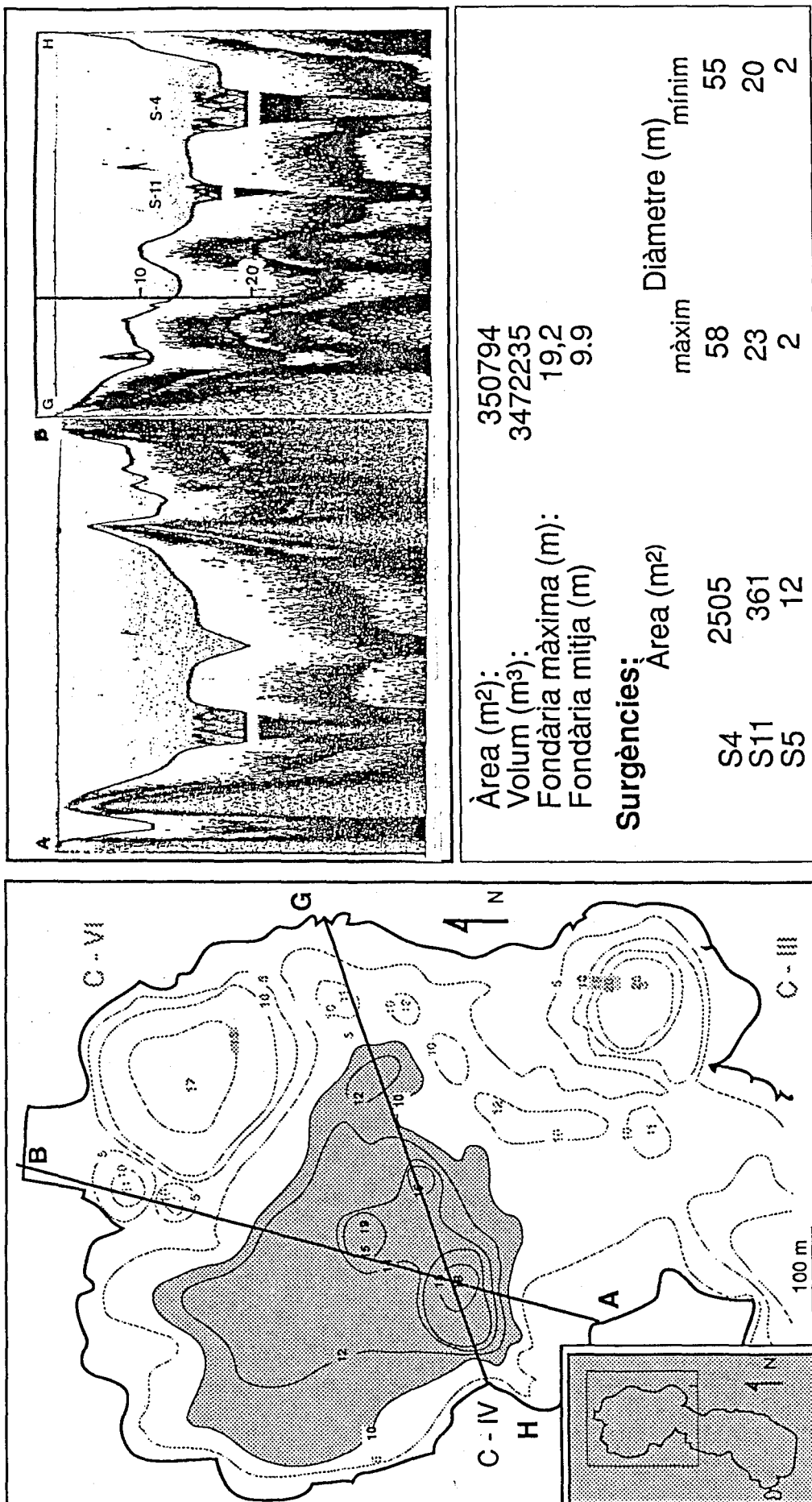


Figura 3.6. Batimetria, perfils d'ecosondació i principals paràmetres morfomètrics de la cubeta IV (C-IV).
Figure 3.6. Bathymetric map, echo-sounding profiles and main morphometrical parameters of basin IV(C-IV).

3.2.2.3. *Cubeta VI (C-VI)*

Aquesta cubeta mostra un perímetre pràcticament circular i regular amb una fondària màxima de 17 metres situada a la seva part central (figura 3.7). És la única cubeta que actualment no presenta cap surgència. Es tracta doncs d'una cubeta holomíctica amb estratificació tèrmica a l'estiu i mescla total a l'hivern.

La figura 3.8 mostra les corbes hipsogràfiques de les tres cubetes, observant-se la de C-III és convexa, la de C-IV és pràcticament linial i la de C-VI és còncava. A partir d'aquestes corbes es pot comparar tant el pendent de cada cubeta com la fondària relativa.

3.2.3. Paràmetres físico-químics

3.2.3.1. *Llum*

La penetració de la llum a les cubetes C-III, C-IV i C-VI està recollida a la figura 3.9. En primer lloc és destacable l'aparició de períodes transitoris de terbolesa a les tres cubetes, els quals no coincideixen en el temps. El primer d'aparèixer és el de C-VI, a finals del mes de maig, recuperant tot seguit la transparència. Aquests augments de terbolesa es produeixen a les altres dues cubetes dos mesos més tard, apareixent seqüencialment primer a C-IV (finals de juliol) i poc després a C-III (principis d'agost). Aquest fet no es relaciona, en principi amb els màxims de població algal, tal com caldria esperar, doncs a les tres cubetes aquests es produeixen molt abans de l'aparició d'aquests curts períodes de terbolesa.

Un altre fet destacable en la distribució espai-temporal de la penetració de la llum és l'alta extinció que es registra per sota de la termoclina, durant l'estratificació estival. Això és parcialment degut al desenvolupament de denses poblacions de bacteris fototròfics a aquest nivell, juntament (en el cas de C-IV) amb l'acumulació de petites quantitats de precipitats de FeS amorf a tot el monimolimnion. D'aquesta manera el patró de distribució espai-temporal de la penetració de la llum, és comparable al d'aquelles altres variables que també sofreixen extincions per sota de la primera picnoclina.

3.2.3.2. *Temperatura*

La temperatura és una variable que afecta l'estratificació de l'estany presentant una distribució bastant repetitiva al llarg del temps i l'espai, donat que la font d'energia calorífica és la mateixa. No obstant això, dues de les tres cubetes estudiades presenten un altre factor que modifica la temperatura llevat de l'energia solar. Es tracta de l'entrada d'aigua per les surgències del fons amb

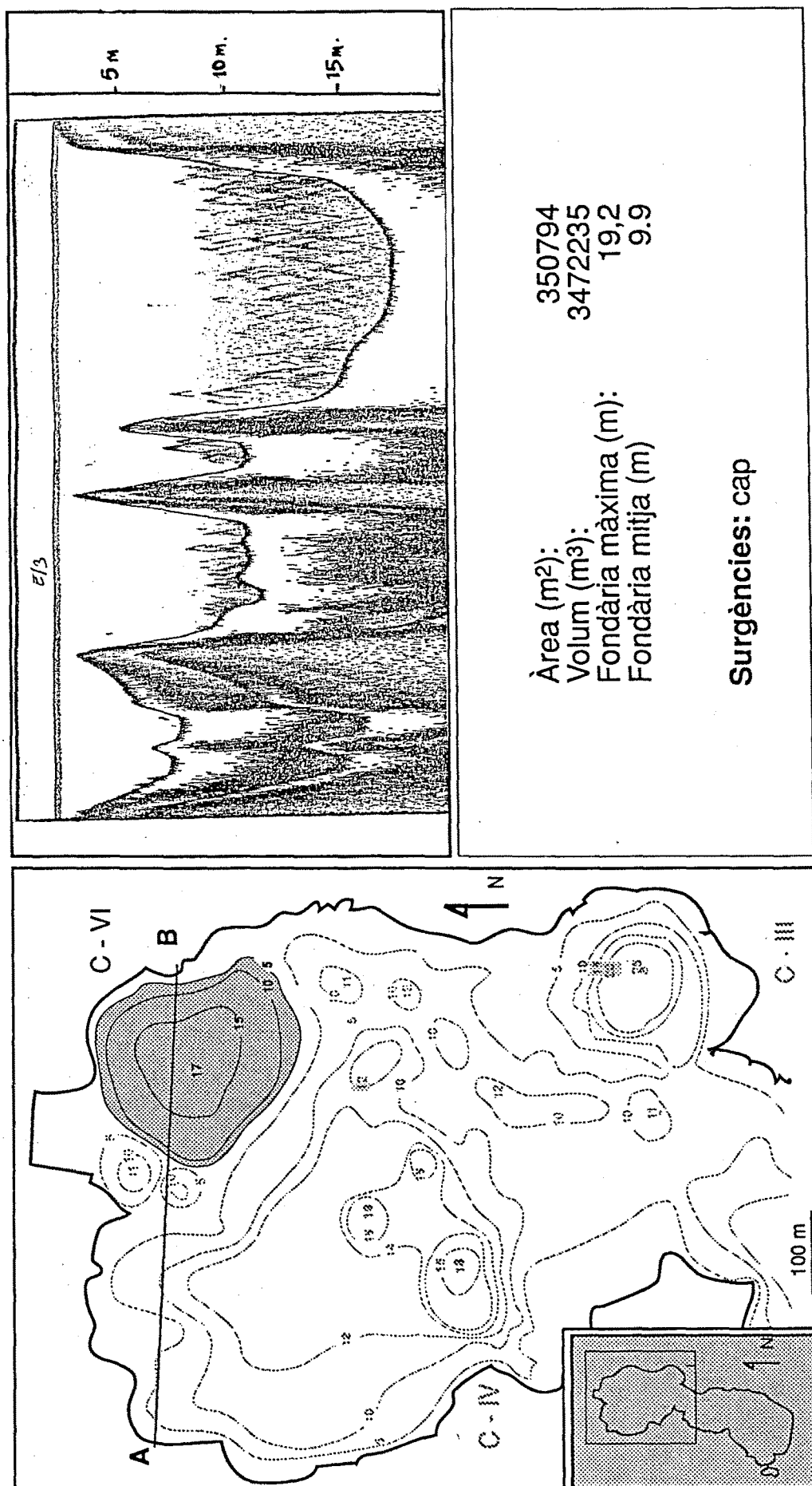


Figura 3.7. Batimetria, perfils d'eco sondació i principals paràmetres morfomètrics de la cubeta VI (C-VI).
 Figure 3.7. Bathymetric map, echo-sounding profiles and main morphometrical parameters of basin VI (C-VI).

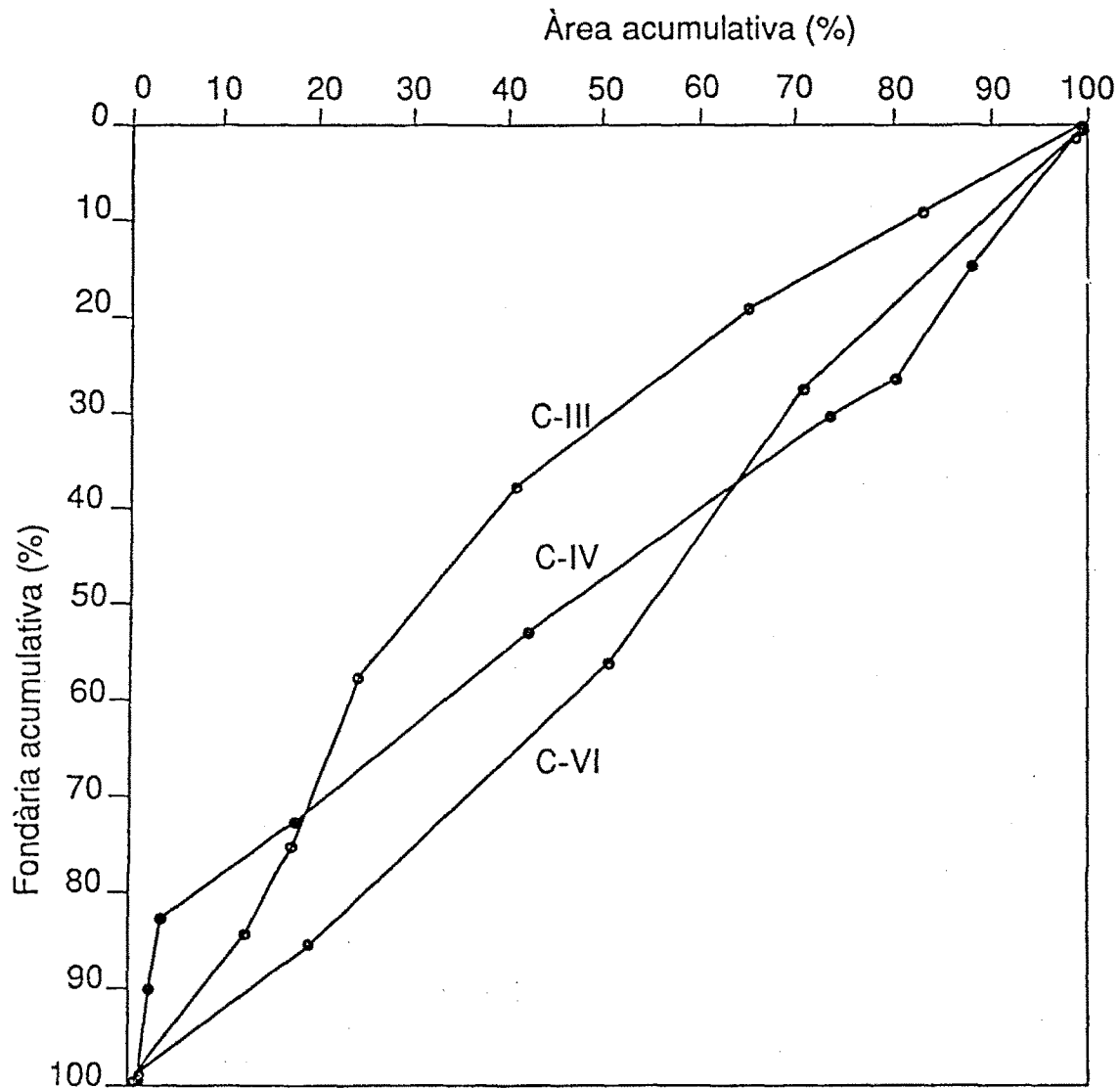


Figura 3.8. Corbes hipsogràfiques relatives de les tres cubetes del lòbul Nord de l'Estany de Banyoles. (Redibuixat de Moreno-Amich i Garcia-Berthou, 1989). **Figure 3.8.** Relative hypsographic curves for the three basins located in northern area of Banyoles Lake. (Redrawn from Moreno-Amich & Garcia-Berthou, 1989).

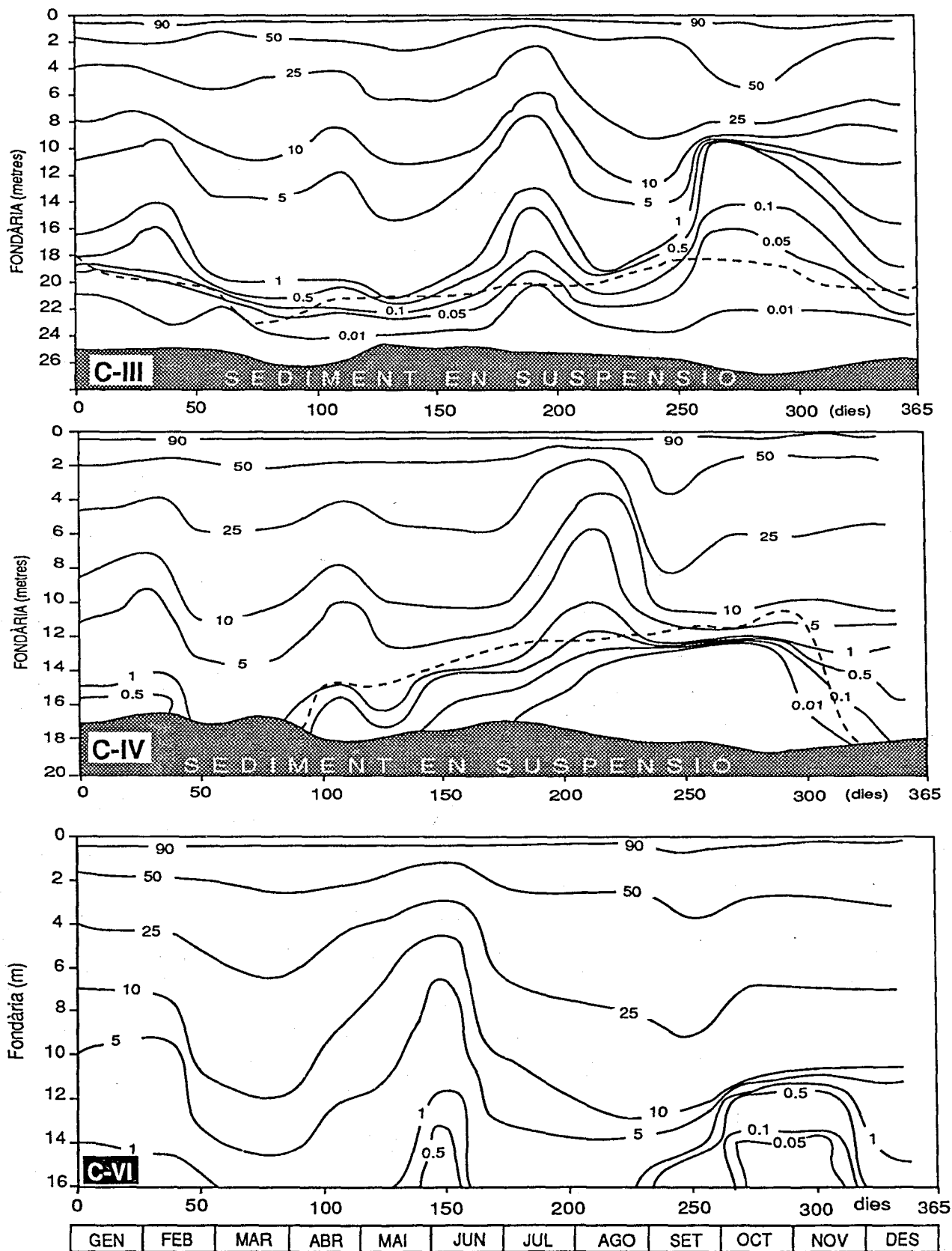


Figura 3.9. Distribució espai-temporal de la penetració de la llum (% respecte a la superfície) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.9.** Time-depth representation of light penetration (% of light surface) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of chemocline

una temperatura relativament elevada (17 °C) i pràcticament constant durant tot l'any. Aquest fet confereix un patró de distribució de la temperatura, que és diferent per a cada cubeta.

Les distribucions de la temperatura al llarg de l'espai i del temps a les tres cubetes estudiades, C-III, C-IV i C-VI queda recollida a la figura 3.10. L'estructura tèrmica es repeteix a l'epilimnion de les tres cubetes. No obstant, per sota del monimolimnion el comportament de la temperatura és més heterogeni. Els mominolimnia de C-III i C-IV estan a una temperatura superior a la de les aigües hipolimnètiques situades immediatament per sobre, mantenint-se pràcticament sense variacions al llarg del cicle anyal. Això es produeix per l'escalfament diferencial que experimenta el monimolimnion com a conseqüència de l'entrada d'aigua freàtica amb una temperatura entre 16 i 18 °C durant tot l'any. A C-IV la part de la columna d'aigua situada entre la termoclina i la quimioclina no pot refredar-se amb la mateixa intensitat amb la que ho fa a les altres dues cubetes, degut a que aquest espai va disminuint progressivament el seu gruix des d'abril (6 metres) fins al setembre on desapareix, observant-hi una superposició dels gradients físic i químic. Per tant, la temperatura de l'aigua que entra per C-IV serveix per a mantenir la del hipolimnion amb valors que no baixen de 11 °C. La temperatura de l'aigua que entra per les surgències es manté pràcticament constant al llarg del temps, enregistrant-se poques diferències entre els valors de C-III i el de C-IV.

3.2.3.3. Conductivitat

Els canvis de conductivitat al llarg de la columna d'aigua donen idea del nivell d'estratificació química que presenta la cubeta en un moment donat. D'altra banda, els canvis en els valors de conductivitat al llarg dels temps donen informació sobre el flux que entra a l'Estany, doncs aquest és el principal determinant de la quantitat de sulfats i carbonats que porta dissolts aquesta aigua. La pluja és un factor de dilució que incideix en els valors de conductivitat que pren l'aigua de l'Estany.

A la figura 3.11 es mostra la distribució a l'espai i al temps d'aquesta variable, a C-III, C-IV i C-VI respectivament. S'aprecia una gran similitud entre les distribucions de conductivitat a l'epilimnion de les tres cubetes. En concret s'ha registrat un mínim de 900 $\mu\text{S cm}^{-1}$ al mes de febrer, coincidint amb unes fortes pluges, i un màxim de 1500 $\mu\text{S.cm}^{-1}$ al mes d'agost, quan els fluxes d'entrada eren mínims i les pluges nul·les. En general, és un fet comú a l'estany de Banyoles l'increment de conductivitat a l'estiu i el descens en la quantitat de sals en solució a l'hivern, tot seguint els índex pluviomètrics que es produeixen al llarg de l'any. La conductivitat a C-VI era homogènia per a

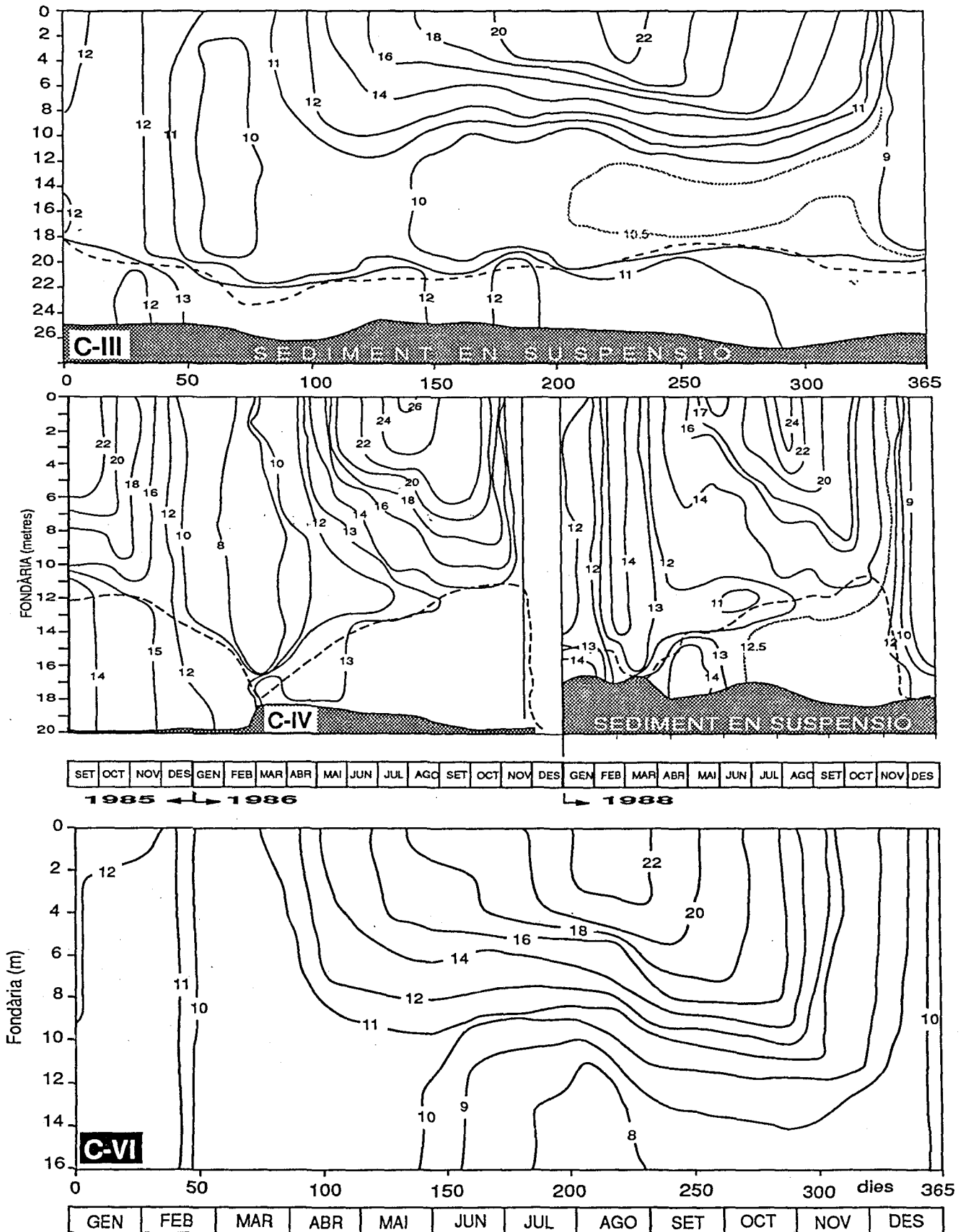
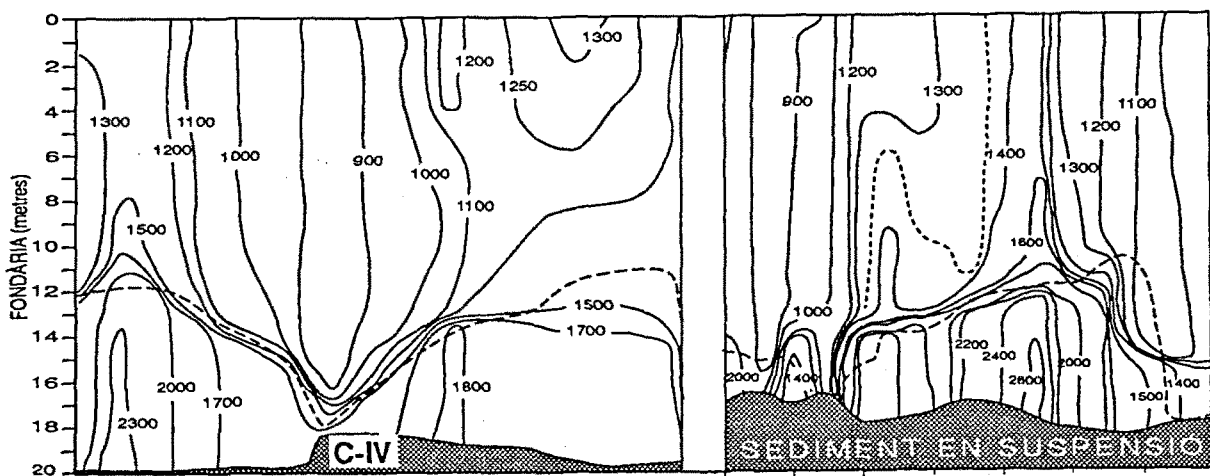
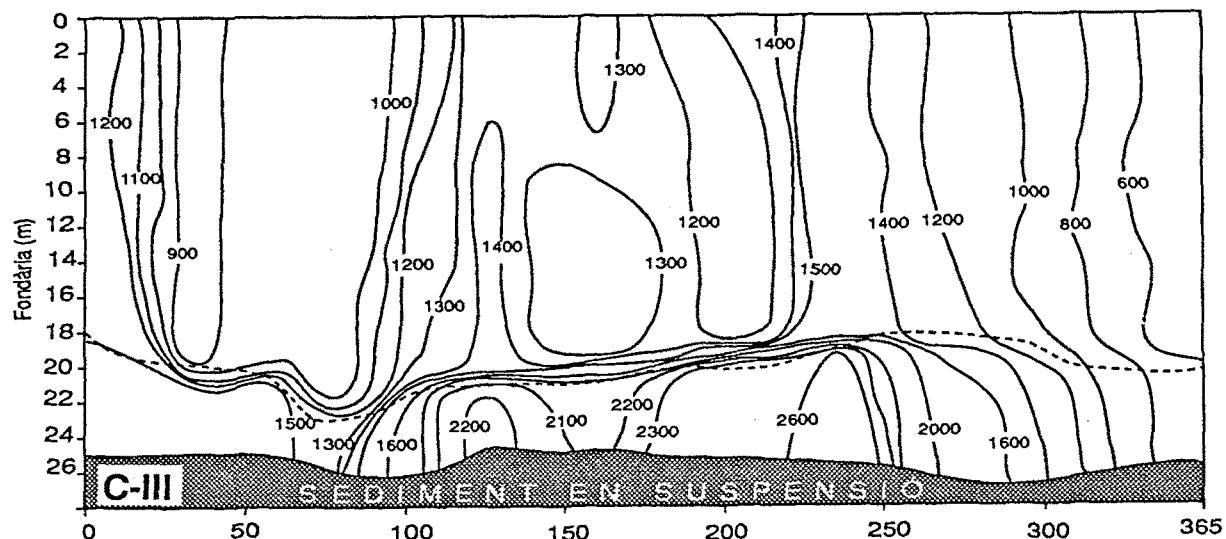
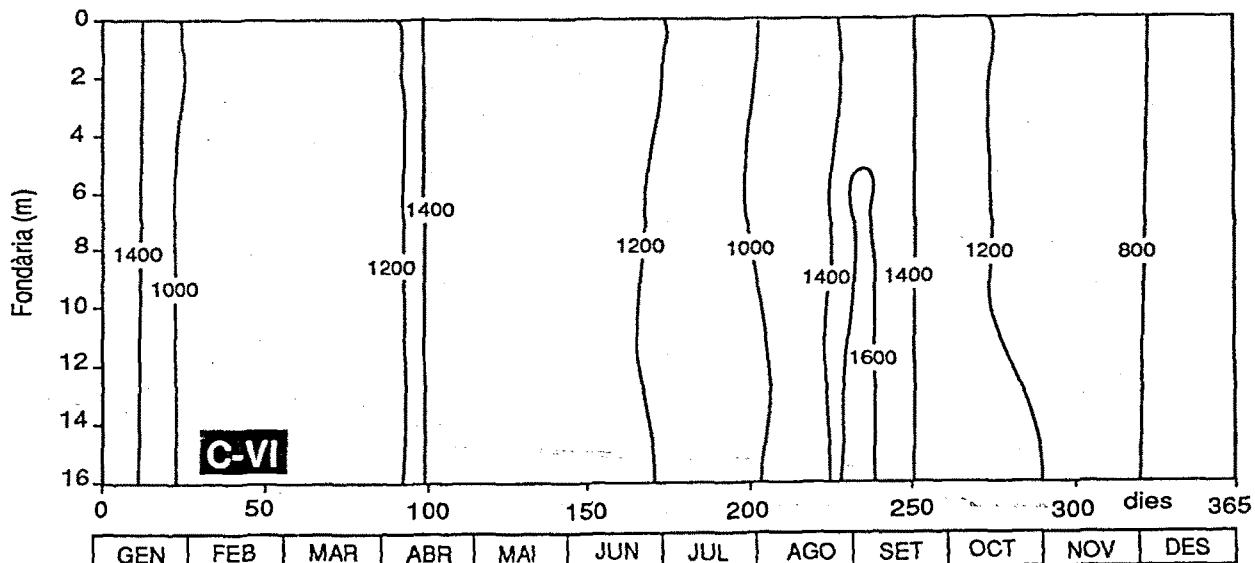


Figura 3.10. Distribució espai-temporal de la temperatura (°C) a CIII, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.10.** Time-depth representation of temperature (°C) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.



SET	OCT	NOV	DES	GEN	FEB	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGC	SET	OCT	NOV	DES	GEN	FEB	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGC	SET	OCT	NOV	DES
1985 ←												→ 1988															



GEN	FEB	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DES
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Figura 3.11. Distribució espai-temporal de la conductivitat ($\mu\text{S.cm}^{-1}$) a C-III durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.11.** Time-depth representation of conductivity ($\mu\text{S.cm}^{-1}$) in C-III during 1988. Dashed line: localization of the chemocline

tota la columna d'aigua, com a un indicador que aquesta cubeta no presenta cap surgència. Les variacions que s'aprecien són temporals, depenent de les pluges i del fet que les aigües més superficials són comunes per a tot l'Estany. C-III i C-IV, al contrari, presenten intensos gradients de conductivitat que porten de $1600 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ a $2600 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ en poc més d'un metre, al més d'agost. Aquesta diferència en la salinitat de les aigües més profundes els confereix una major densitat, malgrat que com s'ha vist a l'apartat anterior aquestes aigües presenten una temperatura que, especialment a l'estiu, és sensiblement superior a la que té l'aigua hipolimnètica situada immediatament a sobre (vegis apartat 3.2.3.4).

C-IV experimenta la pèrdua total de la seva estratificació química gairebé una vegada a l'any per mescla total de la columna d'aigua durant l'hivern. A la primavera, quan les condicions climàtiques són més estables, les turbulències que mesclen la columna d'aigua no arriben al fons permetent que l'aigua sulfatada que entra per les seves surgències es vagi dipositant i acumulant al fons de la cubeta. Aquest fet queda constatat en trobar la quimioclina cada vegada més amunt a mida que passa l'estiu. C-IV presenta doncs unes característiques molt peculiars en quant a la seva estratificació química que permeten plantejar qüestions interessants sobre el concepte d'estabilitat quan es parla de meromixi. Aquest tema és abordat amb més profunditat a l'apartat de discussió.

3.2.3.4. Densitat

La distribució de la densitat de l'aigua possibilita el seguiment de la dinàmica d'estratificació vertical de les aigües de l'Estany de Banyoles.

La densitat de l'aigua a l'Estany de Banyoles ve determinada per la temperatura i per la concentració de sals dissoltes (sulfat i bicarbonat càlcic principalment) mesurada com a conductivitat. No obstant això, si s'observa la distribució espai-temps d'aquesta variable per a les diferents cubetes (figura 3.12) pot identificar-se, per la forma que adopten les isopletes, amb la distribució de la temperatura. Això vol dir que en la densitat de l'aigua de l'Estany de Banyoles la temperatura especialment durant el període estival, hi juga un paper més important que no pas la conductivitat o sals dissoltes. És observable el paral·lelisme entre l'evolució de la densitat tant en el temps com en la fondària, entre les cubetes C-IV i C-VI. La meromixis que s'estableix a la primera sembla no determinar diferències importants en quant a la densitat de l'aigua si bé és suficient per que no es produeixi mescla entre les aigües monimolimnètiques i les situades immediatament a sobre.

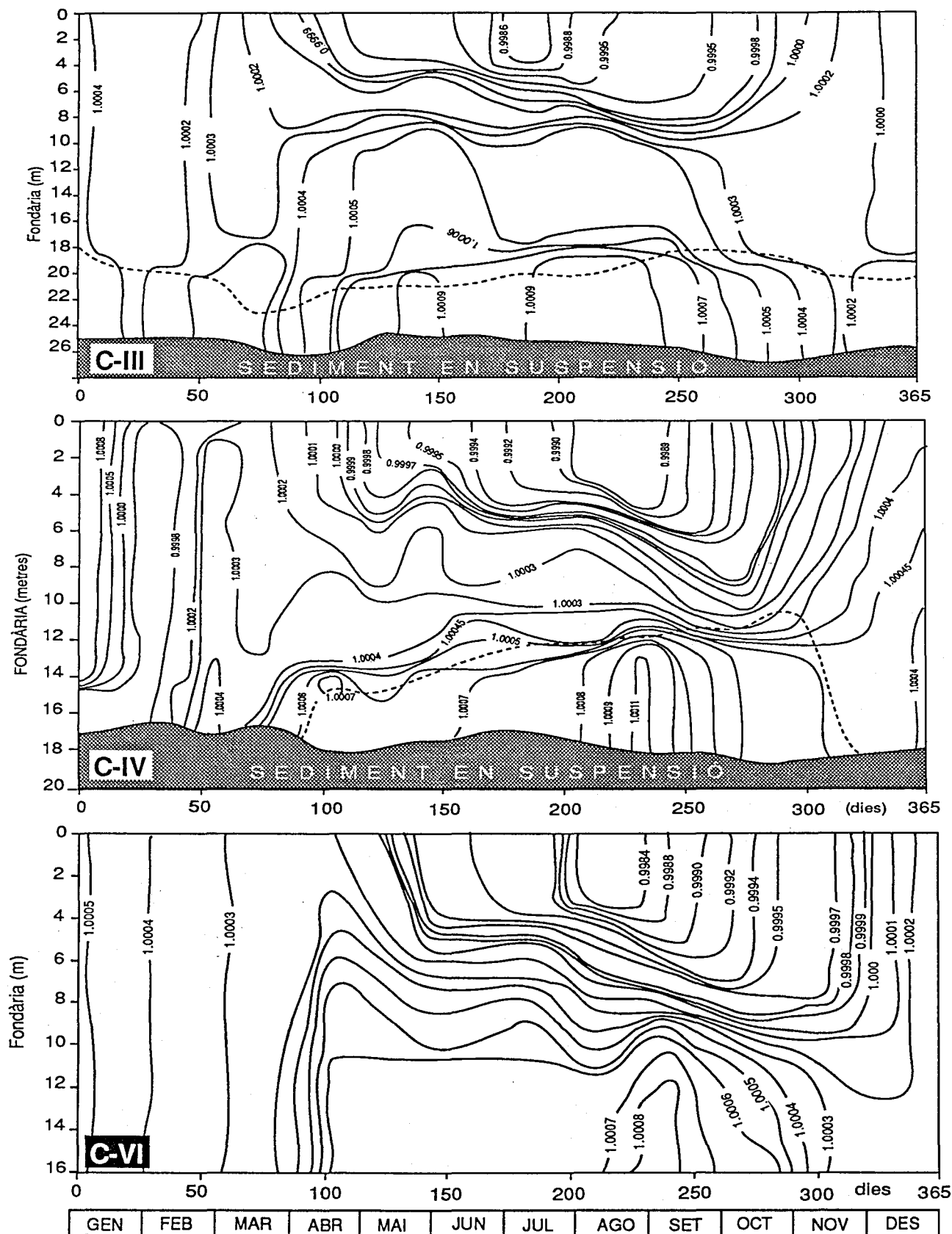


Figura 3.12. Distribució espai-temporal de la densitat ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.12.** Time-depth representation of density ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

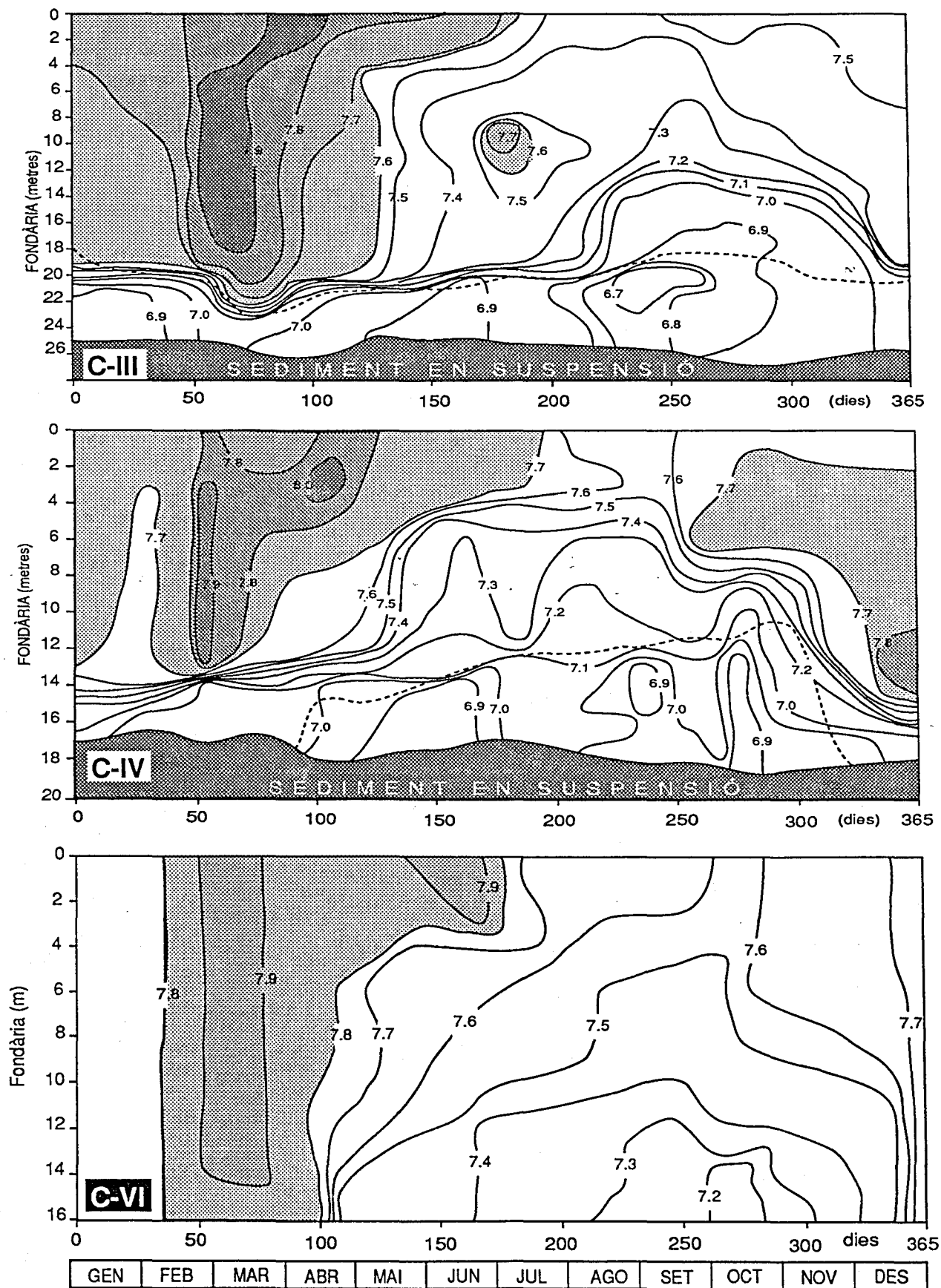


Figura 3.13. Distribució espai-temporal del pH a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.13.** Time-depth representation of pH in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

A C-III en canvi, s'observa un increment de la densitat de les aigües del fons degut a la presència permanent d'aigües sulfatades al fons. En aquestes aigües les sals dissoltes juguen un paper més important que la temperatura en la densitat. L'augment de la densitat de l'aigua de l'hipolimnion d'aquesta cubeta com a conseqüència de la seva inferior temperatura, en relació al monimolimnion, no és suficient per a igualar-se a la densitat que presenta aquest, fent que estigui permanentment separat de la resta de la columna d'aigua. A més l'efecte del vent en fondària és pràcticament nul. Només ocasionalment, la combinació de les baixes temperatures i l'acció mecànica dels vents pot ocasionar la seva mescla (Abellà 1980, Casamitjana 1989).

3.2.3.5. pH

Les aigües de l'estany de Banyoles poden considerar-se alcalines atenent la seva concentració de carbonats (Planas, 1973). Els valors de pH mesurats a les tres cubetes són molt similars a l'epilimnion, oscil·lant entre 7.5 i 8.0. Les condicions d'anòxia, permanents als monimolimnia de C-III i C-IV i temporalment establerts a part de la columna de les tres cubetes, aporten substàncies dissoltes de naturalesa àcida que difonen des del sediment. Aquestes el sulfhídric (respiració de sulfats i fermentació) i els àcids orgànics en general, provinents de processos de fermentació de la matèria orgànica al sediment.

El pH als monimolimnia de C-III i C-IV prenen valors per dessota de 7 (6.8 a 7) fent-se més baixos a mida que avança l'estiu i l'anòxia s'estén per l'hipolimnion, sota la termoclina (figura 3.13). Aquesta estructura es repeteix a C-VI, però amb la particularitat que el valor més baix, tot i assolint-se també al més d'octubre, arriba a ser de 7.2, dues dècimes superior al valor mínim de les dues cubetes meromíctiques. Aquest valor, però, és el mateix que presenta l'hipolimnion de C-III i C-IV durant gran part de l'estiu. Per tant, cal pensar que el monimolimnion, en estar aïllat de la resta de la columna permet una acumulació més intensa de les substàncies que baixen el pH esmentades anteriorment, presentant valors de pH més baixos durant tot l'any.

Un fet remarcable és l'increment de pH detectat a C-III a l'estiu. Aquest màxim està situat entre els 9 i els 12 metres de fondària presentant valors de 7.7 en un moment (juliol) en que sota la termoclina es registraven valors de 7.3 amb tendència a disminuir. La activitat fotosintètica d'una densa població fitoplanctònica present en aquell moment entre les fondàries esmentades podria explicar aquest increment temporal en el pH de l'aigua (veure apartat 3.2.3.13)

3.2.3.6. Potencial redox

A la figura 3.14 es representa la distribució espai-temporal del potencial redox (Eh) a les tres cubetes. Es pot apreciar la clara diferència existent entre el mixo- i el monimolimnion pel que fa a aquesta variable, amb una intensa redoxclina que coincideix amb la quimioclina descrita a l'apartat 3.2.3.3, on els valors canvien bruscament de +300 mV a -300 mV en un metre de fondària. La situació descrita es manté constant durant tot el cicle anyal de 1988, si bé els valors del monimolimnion es van fent més electronegatius a mida que avança l'estiu passant de -250 mV a l'hivern fins a -350 mV a la tardor. Aquest fet pot interpretar-se com una resposta a un increment en l'activitat sulfat-reductora del sediment durant l'estiu i després de la sedimentació de les algues crescudes durant la primavera.

D'altra banda, l'establiment de condicions anòxiques a l'hipolimnion a finals de l'estiu fa que es detecti un lleuger però progressiu descens en Eh per sota la termoclina. Aquest fet es repeteix a les altres dues cubetes C-IV i C-VI. S'observa com, una vegada que les cubetes s'estratifiquen tèrmicament, es produeix una disminució brusca dels valors de potencial redox, com a conseqüència dels processos de mineralització de matèria orgànica i el consegüent esgotament de l'oxigen a l'hipolimnion.

A C-IV, després del restabliment de la meromixi al març, s'observa que els valors de Eh són positius per a tota la columna d'aigua, malgrat l'absència d'oxigen, el qual s'esgota ràpidament. A mida que avança la primavera i l'estiu els valors es van fent més negatius, fins que al més d'agost s'assoleixen valors inferiors a -100 mV. Aquesta dinàmica al monimolimnion de C-IV és perfectament comparable amb el que pot observar-se a l'hipolimnion de C-VI. La resta de l'any (hivern) el potencial redox és pràcticament constant a tota la columna amb valors al voltant de + 300 mV.

3.2.3.7. Oxigen

L'oxigen segueix un patró de distribució força similar a les tres cubetes estudiades, tal i com s'observa a partir de la figura 3.15. Apareix un màxim al mes de març a les tres cubetes, el qual es localitza a fondàries diferents depenent de la cubeta. Així, a C-III es mesuraren 13 ppm entre 4 i 8 metres, mentres que a C-IV i C-VI aquest màxim es situava als 8 metres amb valors de 12.4 ppm i 12.8 ppm respectivament. Aquest màxim en la concentració d'oxigen pot relacionar-se amb una floració de fitoplancton, que es perllonga durant part de la primavera.

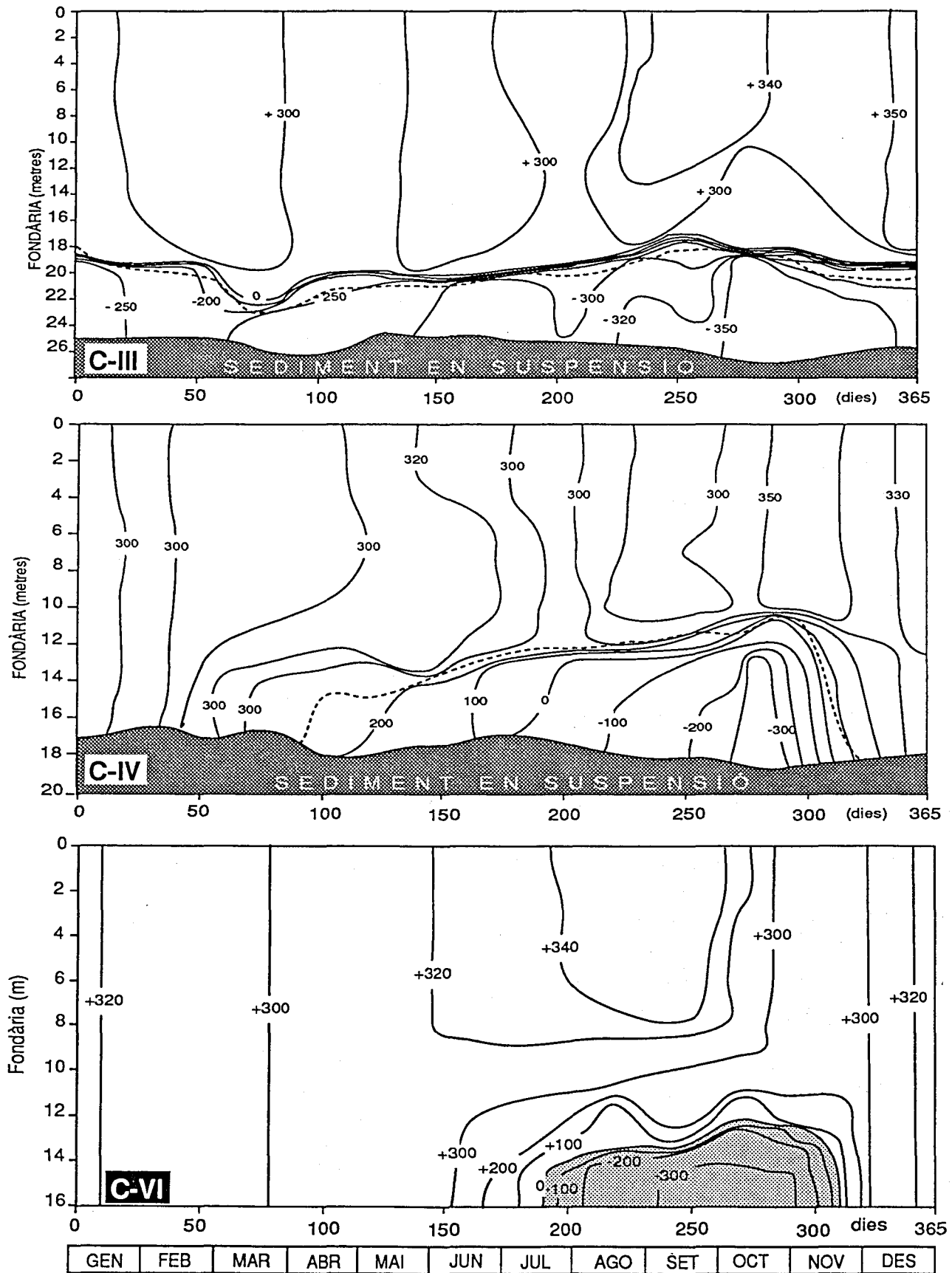


Figura 3.14. Distribució espai-temporal del potencial redox (mV) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.14.** Time-depth representation of redox potential (mV) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

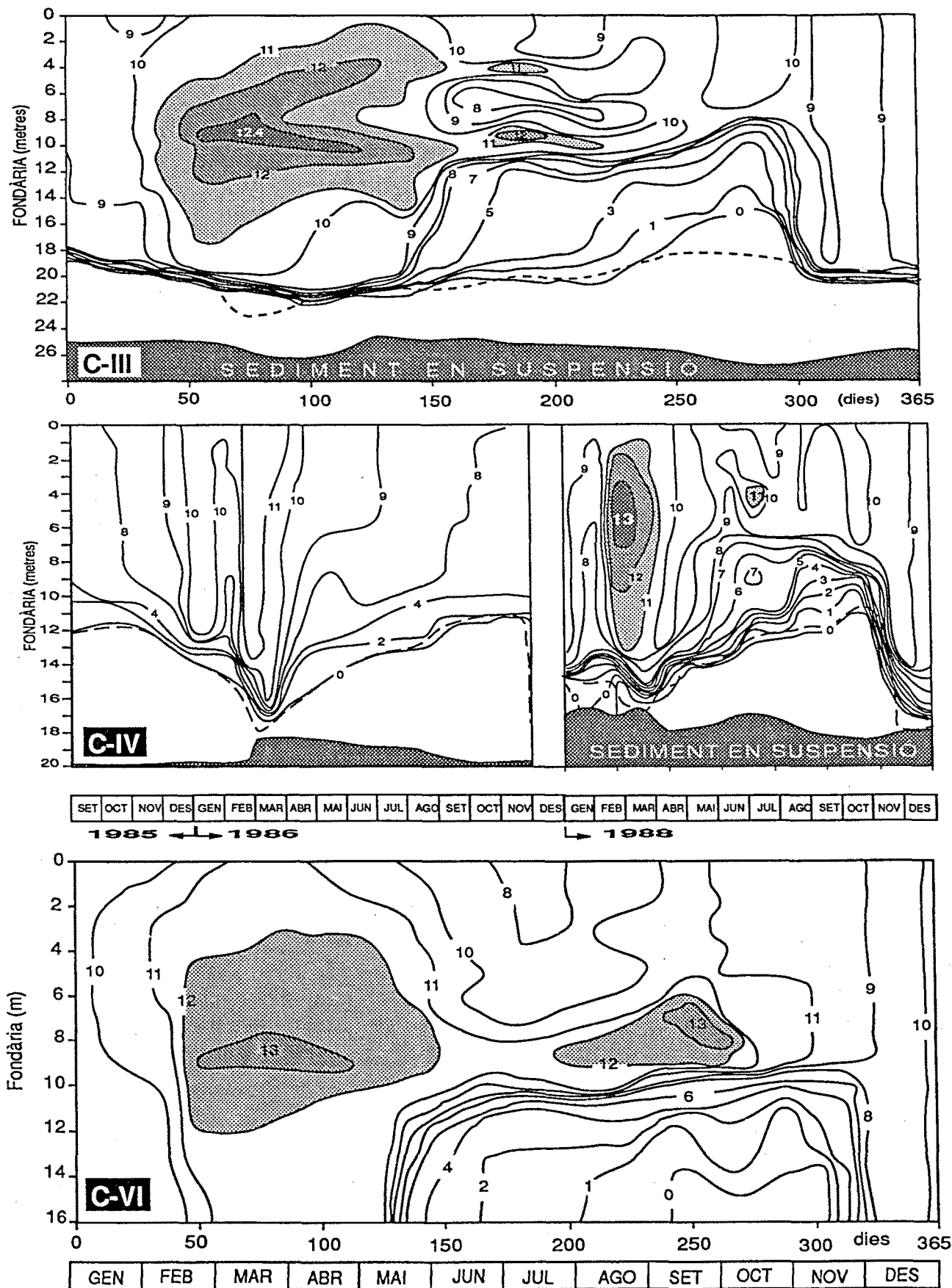


Figura 3.15. Distribució espai-temporal de la concentració d'oxigen (mg.L⁻¹) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina.
Figure 3.15. Time-depth representation of oxygen concentration (mg.L⁻¹) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

Durant l'estiu (setembre), als 8 m de fondària de la C-VI es desenvolupa un altre màxim, encara més intens (13 ppm) que no era observable a les altres dues cubetes. Tan sols al més de juny, a C-III, apareix en fondària un doble màxim d'oxigen als 4 i 10 metres que es perllonga durant gran part de l'estiu, per desaparèixer al mes de setembre. A C-IV només es detecta aquest doble màxim (11 ppm i 7 ppm) durant un període de temps molt curt durant el mes de juliol.

Aquests màxims temporals d'oxigen poden ser atribuïts a l'activitat de les poblacions fitoplanctòniques, les quals presenten una distribució a l'espai i al temps molt similar a la de l'oxigen, presentant màxims que es distribuïxen conjuntament, coincidint en el temps i en l'espai.

Un altra aspecte comú a la distribució de l'oxigen a les tres cubetes el representa la ràpida desaparició d'oxigen per sota de la termoclina, una vegada formada aquesta. La desaparició d'oxigen és encara més ràpida al monimolimnion de C-IV, una vegada s'ha recuperat el monimolimnion. És destacable, així mateix, el fet que, independentment de la fondària de les diferents cubetes, la distribució espai-temps de l'oxigen fins els 16 metres és pràcticament la mateixa. La única diferència l'aporta C-III en la porció de columna d'aigua (4 metres) que va des de els 16 metres fins el començament de la quimioclina als 19-20 metres.

És remarcable el fet que, a les dues cubetes meromíctiques, l'oxiclina coincideix amb la quimioclina durant tota la primavera i part de l'estiu. A partir del mes d'agost comença a desplaçar-se més amunt degut a l'esgotament de l'oxigen de l'hipolimnion. Durant aquest darrer període de temps l'oxiclina coincideix amb la redoxclina, separant les capes oxidades de la columna d'aigua de les que són reduïdes.

3.2.3.8. Nitrats

Els nitrats a l'estany de Banyoles provenen quasi exclusivament dels aportes episòdics que tenen lloc a través de les rieres d'entrada durant les èpoques de pluja. A C-III s'observa que els nitrats estan distribuïts verticalment de manera força uniforme amb oscil·lacions temporals en la seva concentració (figura 3.16). Durant l'hivern i la primavera els valors de concentració de nitrats es troben entre 5 i 9 μM , essent generalment més elevats que a la resta de l'any. A finals d'agost es va detectar un màxim en aquesta variable de 12 μM entre 10 i 14 metres de fondària. A les capes anòxiques (monimolimnion) els nitrats no eren detectables. Aquest fet s'explica si es té en compte que el monimolimnion de C-III és fortament reductor durant tot l'any (valors de Eh entre -250 i -350 mV). Els nitrats que arriben a aquestes

aigües són ràpidament reduïts a N_2 per l'activitat desnitrificant dels microorganismes, donat el dèficit d'acceptors d'electrons més oxidats que el SO_4^{2-} .

A C-IV i C-VI la distribució de nitrats és força similar a C-III, amb oscil·lacions temporals. C-IV també presenta un màxim de $10 \mu M$ entre agost i setembre, igual que C-III, mentres que a C-IV es va detectar una brusca disminució en la concentració de nitrats entre els mesos de setembre i octubre.

En general, per a C-III i C-IV no es detecten nitrats en aquells punts on el potencial redox es fa negatiu, com a reflexe de l'activitat desnitrifadora en aquesta part de la columna. Aixó és observable a C-VI entre els mesos de juny i octubre, coincidint amb l'establiment de condicions anòxiques a l'hipolimnion. A aquesta cubeta els nitrats desapareixen molt ràpidament, igual que l'oxigen, per sota la quimioclina, una vegada que aquesta s'ha regenerat al començament de la primavera.

3.2.3.9. Nitrits

El nitrit (NO_2^-) és una substància que no s'acumula en grans concentracions a la columna d'aigua, donat que normalment és un pas intermig en els processos de desnitrificació i d'oxidació de l'amoni. Per tant, la concentració de nitrits que es mesuren són sempre molt baixes, i estaran en funció de l'activitat desnitrifadora que té lloc en aquell moment.

A C-III, es va detectar un màxim de nitrits de $1.2 \mu M$ en profunditat (10 metres), tal i com mostra la figura 3.17. Posteriorment la concentració va anar baixant progressivament fins a arribar a ser pràcticament indetectable durant l'estiu. Pot destacar-se però, l'aparició a l'hipolimnion, durant el mes de setembre d'un pic de nitrits de $1 \mu M$. Aquest pic és també observable a C-IV, mentres que a C-VI el nitrit deixa de ser detectable a partir del mes de maig. En aquesta cubeta, les concentracions de NO_2^- que es troben estan sempre per sota de les altres dues. Els valors màxims mesurats no superen els $0.5 \mu M$ trobats a 6 metres al més d'abril, quantitat que es troba pràcticament al límit de detecció del mètode.

3.2.3.10. Amoni

L'amoni és el principal producte final de la descomposició de la matèria orgànica, concretament de les proteïnes i d'altres compostos nitrogenats. La seva formació és conseqüència de l'activitat microbiana anaeròbica, bàsicament la fermentativa.

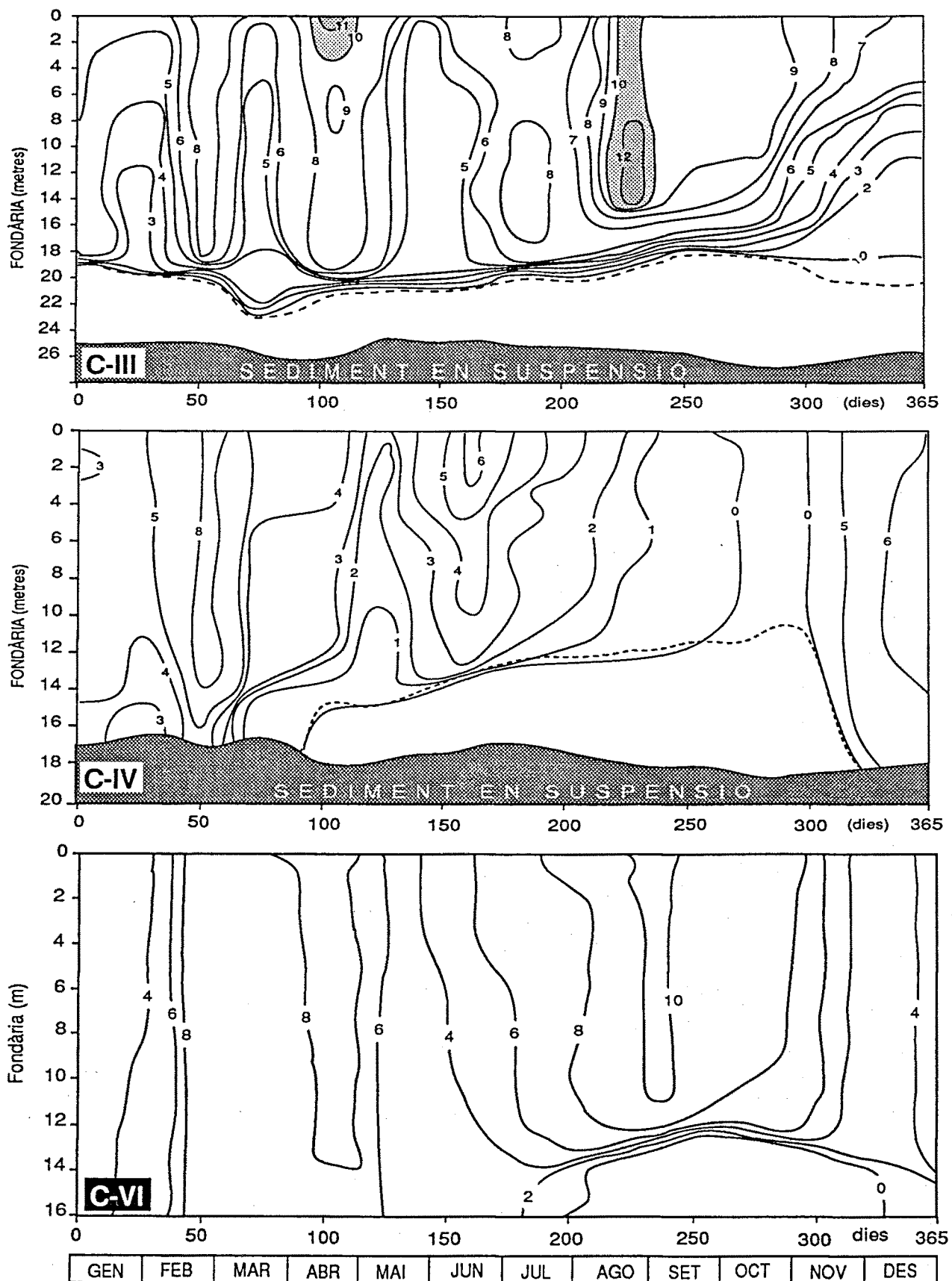


Figura 3.16. Distribució espai-temporal de la concentració de nitrats (μM) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.16.** Time-depth representation of nitrate concentration (μM) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

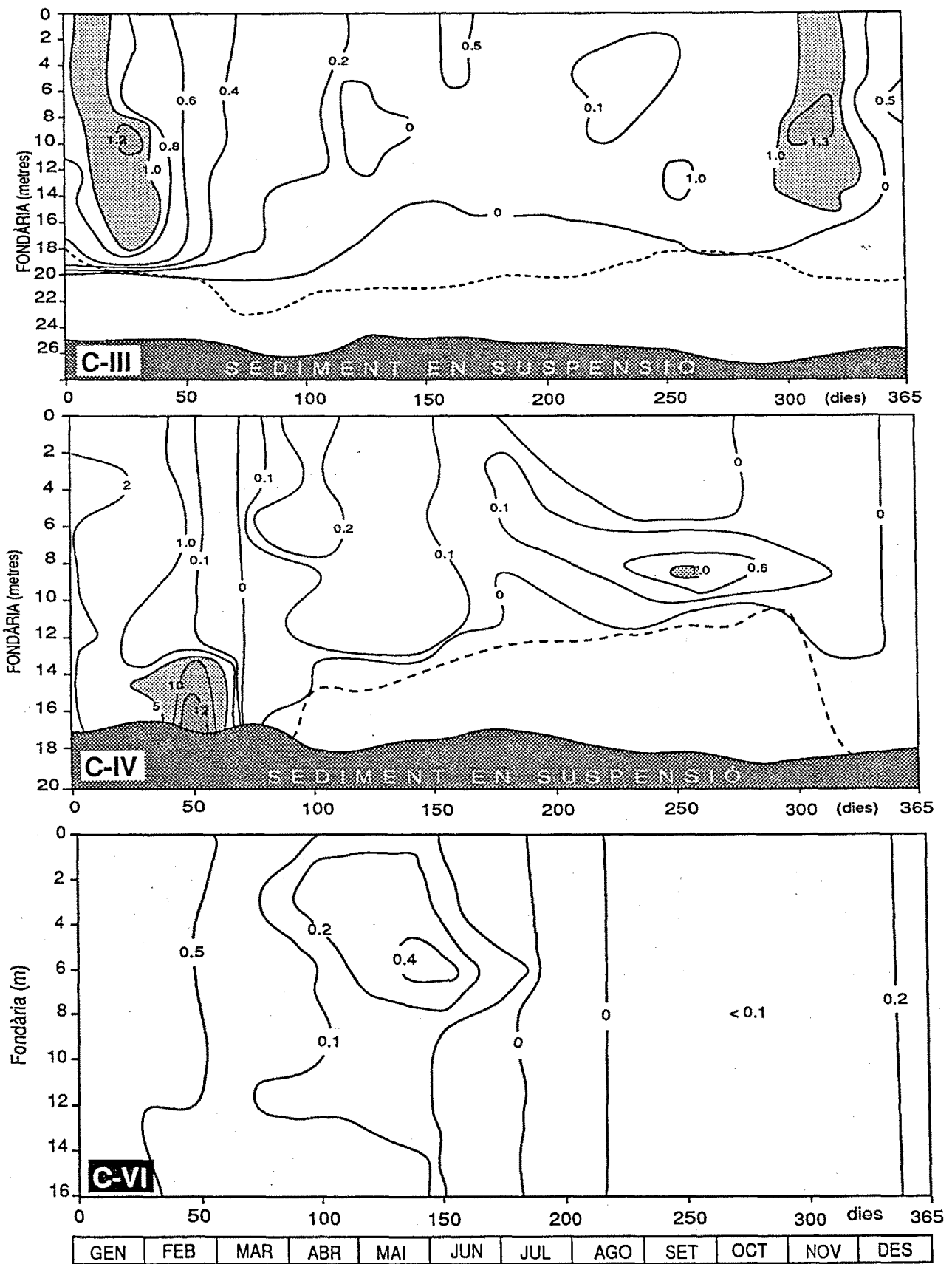
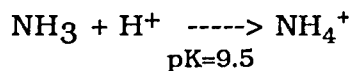


Figura 3.17. Distribució espai-temporal de la concentració de nitrits (μM) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina.
Figure 3.17. Time-depth representation of nitrite concentration (μM) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

Aquesta substància és l'àcid complementari de l'amoniac (NH_3) presentant l'equilibri:



Els valors de pH trobats als llocs on s'acumula l'amoni són molt propers al 7, amb la qual cosa la proporció $\text{NH}_4^+:\text{NH}_3$ és aproximadament de 300:1 (Hutchinson, 1957).

Això permet que l'amoni, en ser soluble, pugui anar acumulant-se a partir del sediment on es produeix. A la figura 3.18 es mostra la distribució espai-temps d'amoni a les cubetes C-III, CIV i C-VI respectivament. La distribució vertical d'aquesta substància reflexa una acumulació, augmentant la seva concentració al aproximar-se al sediment. A C-III i C-IV, a l'igual que passa amb les altres substàncies reduïdes (veure més endavant) l'amoni es troba confinat al monimolimnion passant a ocupar l'hipolimnion quan aquest esgota l'oxigen. La difusió més amunt es veu limitada per la termoclina. A C-IV, una vegada recuperada l'estratificació química, l'aparició d'amoni es força ràpida acumulant-se a un ritme d'aproximadament $3 \text{ mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$. Al monimolimnion de C-III l'amoni hi és present tot l'any atenent l'anòxia permanent d'aquesta porció de la columna d'aigua. En aquesta cubeta poden observar-se oscil·lacions temporals durant l'any 1988. Al mes d'abril apareix un màxim just a tocar el sediment i a partir del mes de maig es produeix un increment progressiu a mida que avança l'estiu. El màxim s'assoleix a finals d'octubre, moment en que, igualment que a C-IV, l'amoni ja ha traspasat la quimioclina acumulant-se a l'hipolimnion on assoleix concentracions fins a $40 \mu\text{M}$. La mescla del mixolimnion sembla tenir efecte en la concentració d'amoni del monimolimnion, doncs a partir d'aquest moment hi ha una baixada significativa en la seva concentració.

A C-VI l'acumulació d'amoni es produeix a l'hipolimnion i és concomitant amb tot el procés d'estratificació estival i esgotament de l'oxigen.

Per a les tres cubetes, els valors màxims es varen trobar poc abans de la mescla vertical, essent força similars a les tres cubetes ($150 \mu\text{M}$). Això pot ser un conseqüència del fet que les tres cubetes reben durant l'any quantitats equivalents de matèria orgànica, que, en ser descomposta, genera concentracions similars d'amoni.

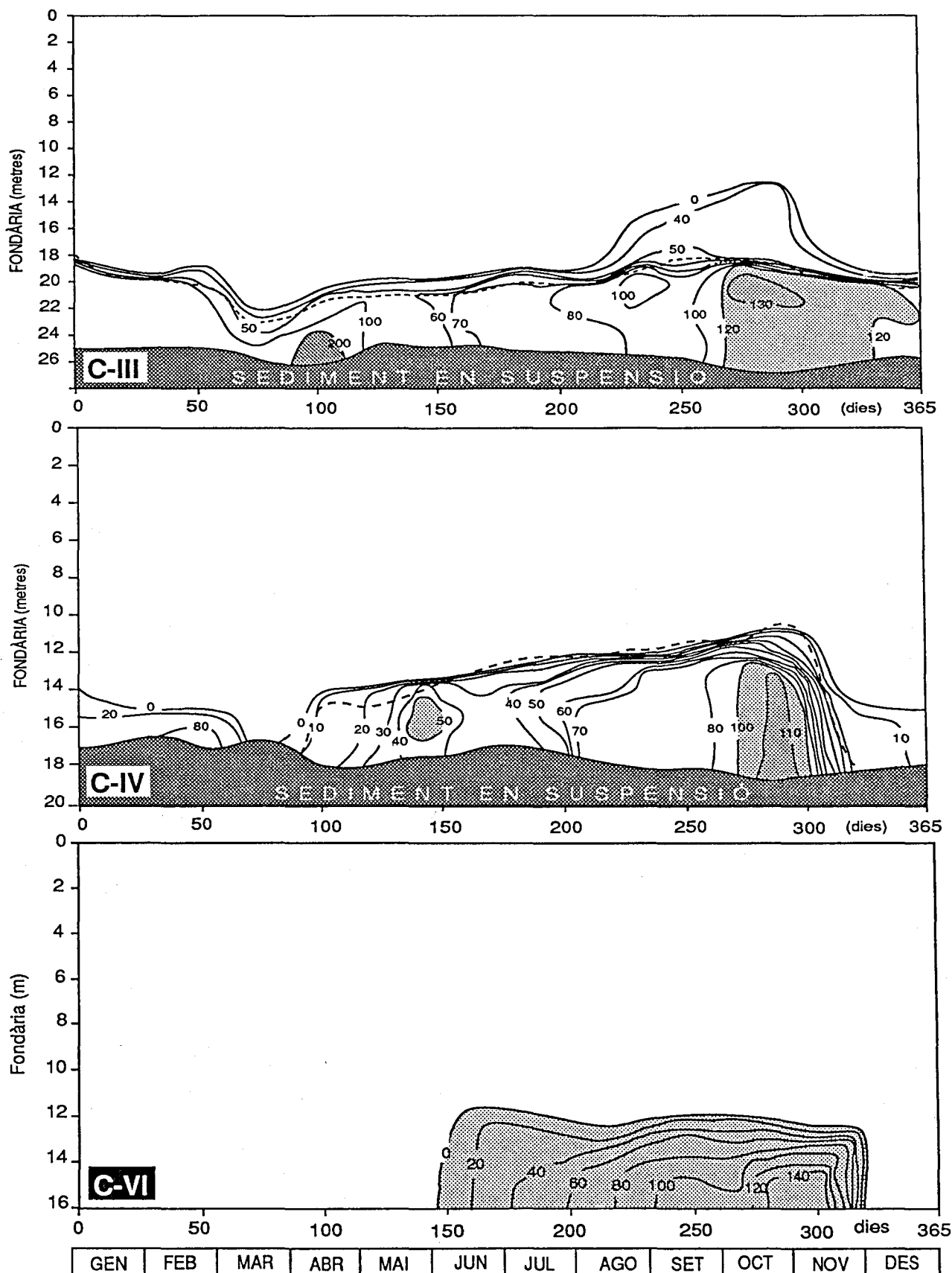


Figura 3.18. Distribució espai-temporal de la concentració d'amoni (μM) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.18.** Time-depth representation of ammonia concentration (μM) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

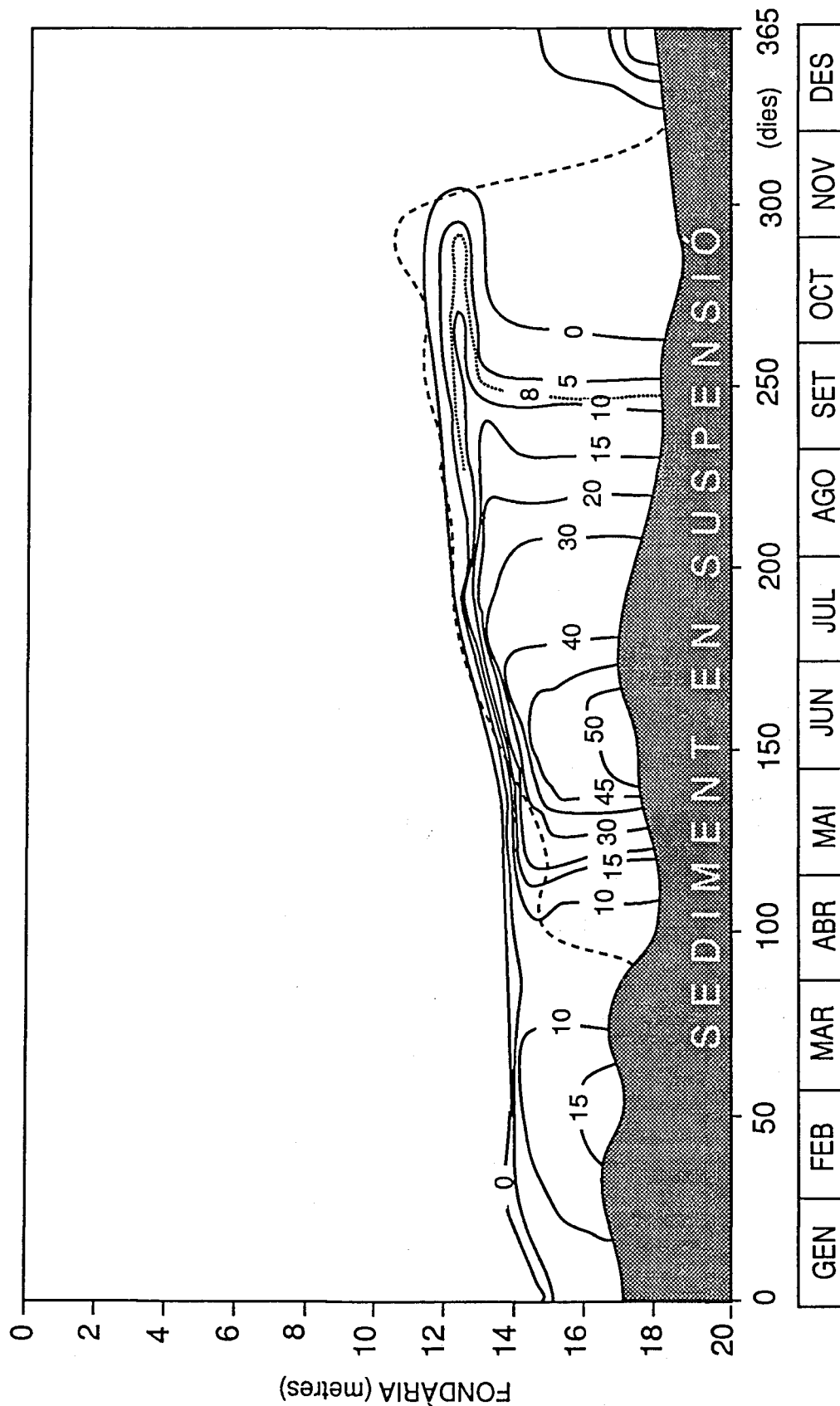


Figura 3.19. Distribució espai-temporal de la concentració de ferro soluble (Fe) (μM) a C-IV durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.19.** Time-depth representation of soluble iron (Fe^{2+}) concentration (μM) in C-IV during 1988. Dashed line: localization of the chemocline

3.2.3.11. Ferro soluble

Tal com s'ha vist a la introducció general al present treball, per les condicions de pH i Eh de l'estany de Banyoles el ferro només es troba soluble a l'aigua en la seva forma reduïda, es a dir com a ió Fe^{2+} . Malgrat tot, ocasionalment es detecten acumulacions d'hidròxid ferric prop del sediment i a l'oxiclina. Aquest compost és insoluble i es reconeix perquè forma floculs de color carbassa.

El Fe^{2+} apareix de forma conspícua només a C-IV, no habent-se detectat acumulacions significatives a C-III ni a C-VI. Les causes d'aquestes diferències són analitzades a l'apartat de discussió i tractades més a fons al capítol 5, on s'estudia el cicle del ferro a C-IV.

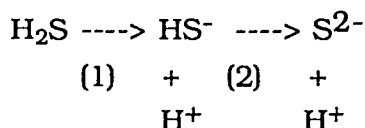
El Fe^{2+} comença a acumular-se al monimolimnion de C-IV (figura 3.19) a finals d'abril, una vegada s'ha extingit totalment l'oxigen. El màxim s'assoleix al mes de juny amb valors de $50 \mu\text{M}$, prop del sediment. A partir d'aquest moment s'observa una progressiva desaparició fins al mes de setembre, moment en que deixa de ser detectable per al sistema d'anàlisi emprat. La producció de H_2S des del sediment a partir de juny és suficientment elevada com per "retirar" del medi el Fe^{2+} , mitjantçant la precipitació química de FeS . Per tant, el Fe^{2+} desapareix del monimolimnion de C-IV en dos moments del cicle anual de 1988 i per dues causes diferents. Primer per oxidació produïda a conseqüència de la mescla total de la columna d'aigua a principis de març, i en segon lloc, per precipitació química amb el H_2S produït durant l'estiu pel sediment. La primera es produeix de forma sobtada, mentre que la segona és un procés molt més lent.

Un aspecte remarcable en la distribució espai-temps del ferro és la presència durant el més d'octubre d'un remanent de Fe^{2+} amb una concentració de $10 \mu\text{M}$ a 12 metres de fondària, mentre que per sota ha desaparegut totalment. Aquest fenomen té a veure amb la presència de bacteris fototròfics del sofre essent objecte d'un estudi més acurat i ampli als capítols 4 i 6.

3.2.3.12. Sulfhídric

La composició química tant de les aigües que alimenten subterràniament l'Estany com del substrate geològic sobre el qual reposa, ambdós rics en anhidrites, fa que les aigües siguin altament sulfatades. Això es reflexa entre altres coses en la seva conductivitat, tal com s'ha vist a l'apartat 3.2.3.3, i en el fet que el cicle del sofre sigui el més actiu al sistema lacustre de Banyoles.

En condicions anòxiques, quan manquen l'oxigen i els nitrats, els sulfats poden ésser utilitzats com a acceptors d'electrons, essent reduïts a H_2S . Aquest gas, és soluble, dissociant-se pel seu comportament àcid segons:



pK1=6.9
pK2=12.7

Així doncs, el sulfhídric (H_2S) s'acumula a la columna d'aigua repartit al 50 % entre les formes H_2S i HS^- . Pel mètode analític emprat (veure apartat de material i mètodes), s'ha mesurat el sulfhídric total en forma d'ió sulfur.

La presència de sulfhídric a les capes anòxiques de les cubetes estudiades permet el desenvolupament de bacteris fototròfics, els quals utilitzen aquesta substància com a font d'electrons i de poder reductor. La dinàmica d'aquestes poblacions és estudiada al capítol 4 de la present memòria.

Al monimolimnion de C-III el H_2S hi és present durant tot l'any, en concentracions que oscil·len entre 200 i 600 μM , tal i com es mostra a la figura 3.20. En la seva distribució vertical la concentració de sulfhídric augmenta prop del sediment compacte, si bé al llarg del temps presenta increments temporals amb intervals més o menys regulars. Així, durant el període estudiat es pot apreciar un màxim relatiu de 300 μM entre els mesos de gener i febrer, un altre de primaveral (mes de maig) amb concentracions de 500 μM i finalment un màxim de 600 μM a finals d'estiu, entre els mesos d'agost i setembre. Al sediment compacte de l'estany de Banyoles, el procés de sulfat-reducció només està limitat per la velocitat dels microorganismes i, principalment, pel donador d'electrons, és a dir, per la matèria orgànica. Si hom té en compte que aquesta prové de forma majoritària de les poblacions fitoplanctòniques que es desenvolupen estacionalment a les capes més superficials d'aigua, hom pot relacionar aquests pulsos de sulfhídric amb pulsos previs de matèria orgànica (floracions algals) que, en forma de cèl·lules sedimentades, han arribat prèviament al sediment.

A les altres dues cubetes, l'acumulació de sulfhídric a l'hipolimnion es produeix estacionalment durant l'estratificació de les seves aigües. A C-IV apareix quan l'estructura meromíctica està plenament restablerta. Les concentracions que es mesuren però, són extremadament baixes (inferiors a 50

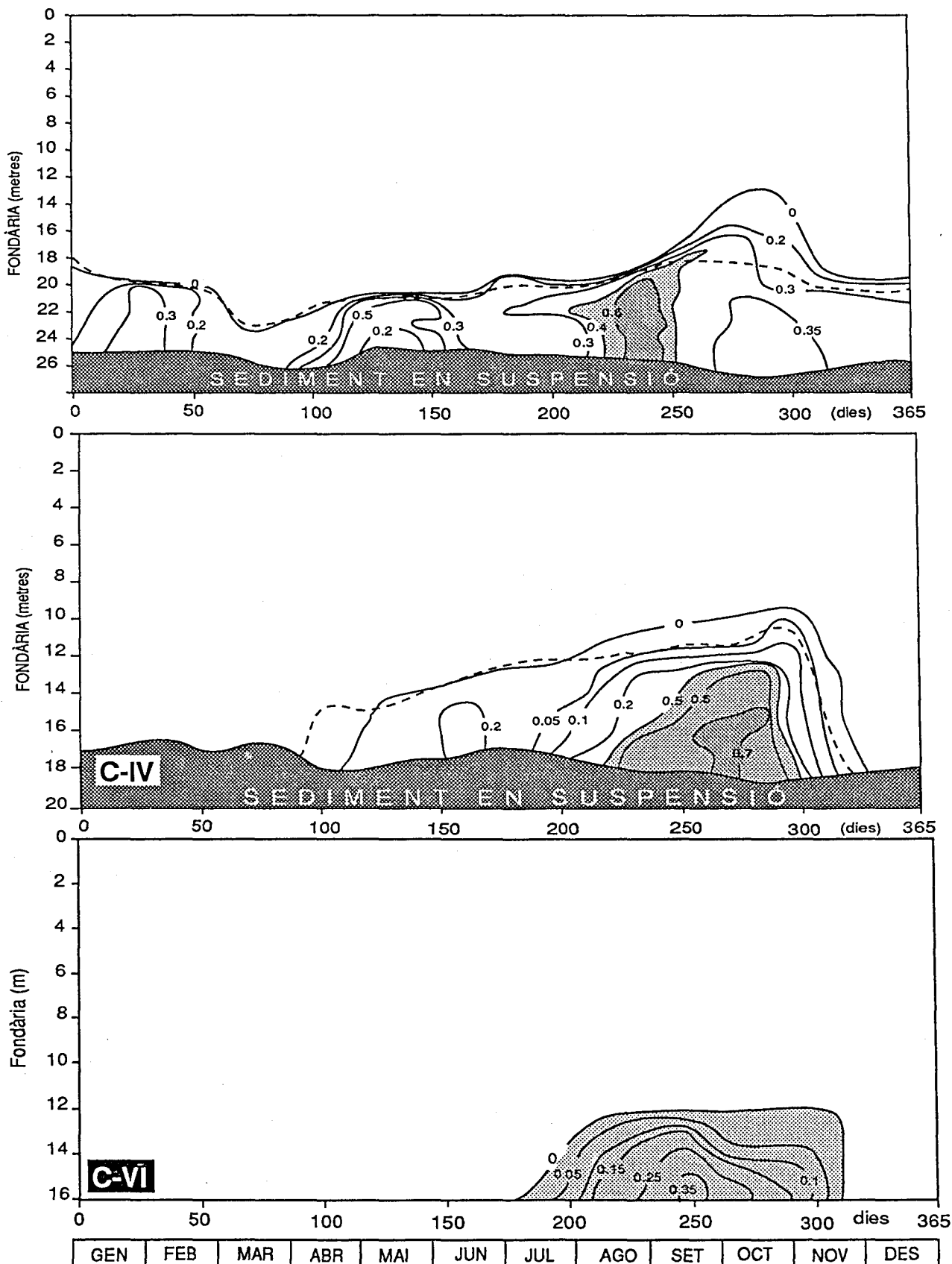


Figura 3.20. Distribució espai-temporal de la concentració de sulfhídric (mM) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina.
Figure 3.21. Time-depth representation of sulphide concentration (mM) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

μM) trobades prop del sediment. Cal recordar que en aquesta cubeta, tal i com es descriu a l'apartat anterior, primerament hi apareix ferro soluble (Fe^{2+}) i que els sulfhídric produït al sediment serveix, en primera instància, per precipitar aquest ferro en forma de FeS . Les concentracions màximes de H_2S apareixen a al mes d'octubre, amb valors de $700 \mu\text{M}$ prop del sediment.

A C-VI la presència de H_2S a l'hipolimnion és més curta en el temps i menys intensa en concentració, amb valors que estan per la meitat ($300 \mu\text{M}$) dels trobats a les altres dues cubetes. A més, aquest màxim es troba un mes abans que a les altres dues cubetes. El fet que tant C-III com C-IV siguin meromíctiques i mantinguin una capa d'aigua al fons separada de la resta per un gradient més intens pot ajudar a que el H_2S s'acumuli donat que la difusió d'oxigen és més difícil. La diferència de temperatures entre els sediments (13°C a C-III i C-IV per 8°C a C-VI) també pot ajudar a interpretar aquestes diferències, donat que la velocitat dels processos de sulfat reducció al sediment, en tant que són produïts per microorganismes, depenen d'aquesta variable. Potser cal recordar que en la majoria de processos microbians l'activitat es duplica en augmentar 10°C la temperatura ($Q_{10}=2$).

Finalment, cal destacar el fet que durant els mesos de setembre i octubre, el sulfhídric, igual que altres variables ja descrites, es distribueix a la porció de la columna d'aigua compresa entre la termoclina i la quimioclina tant a C-III com a C-IV. La presència de H_2S en aquesta part de la columna d'aigua explica els valors negatius del potencial redox, tal i com s'ha descrit en l'apartat 3.2.3.6.

3.2.3.13. *Clorofil.la a*

La mesura d'aquesta variable es pren com un índex directe de la biomassa algal i, per tant del contingut en matèria orgànica de la columna d'aigua, tot i tenint en compte que la concentració específica de pigments pot variar en funció tant de les espècies dominants com de l'estat fisiològic de les mateixes.

La distribució espai-temporal de *Clorofil.la a* és força similar per a les tres cubetes tal i com es pot apreciar a la figura 3.21. En primer lloc apareix un màxim en la concentració de *Clorofil.la a* al mes de març, el qual s'estén per total la columna d'aigua de les tres cubetes. Posteriorment aquest màxim sembla desaparèixer i establir-s'en un altra entre els mesos de maig i juny. Aquest darrer es troba confinat en un punt concret de la columna d'aigua, concretament entre 8 i 10 metres, repetint-se també a les tres cubetes. Posteriorment, durant l'estiu, aquestes poblacions algals desapareixen quasi totalment quedant unes concentracions mínimes de $2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ aproxima-

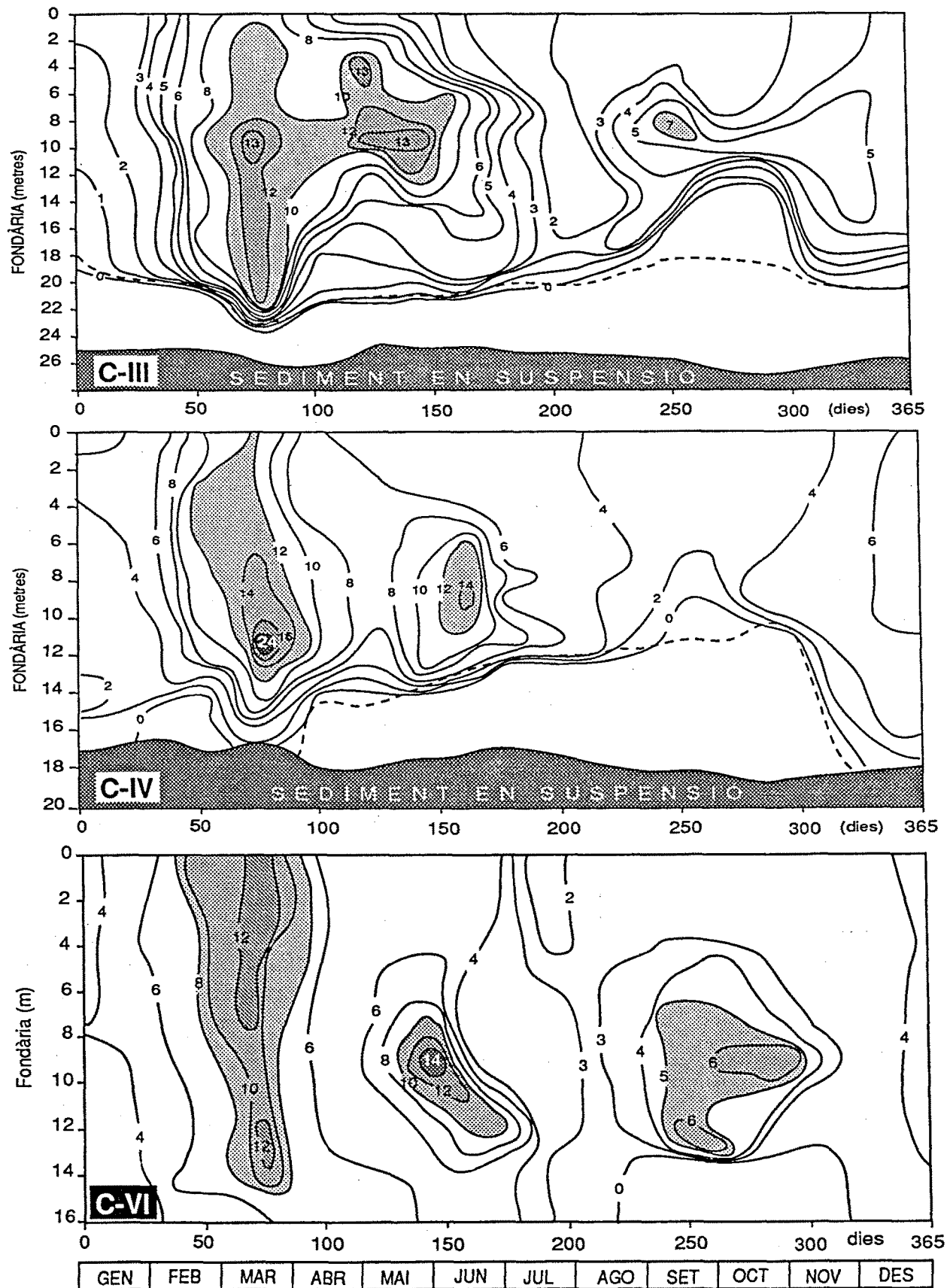


Figura 3.21. Distribució espai-temporal de la concentració de Clorofil·la *a* ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) a C-III, C-IV i C-VI durant 1988. Línia discontinua: localització de la quimioclina. **Figure 3.21.** Time-depth representation of Chlorophyll *a* concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in C-III, C-IV and C-VI during 1988. Dashed line: localization of the chemocline.

dament. Les diferències s'estableixen a principis de la tardor (mes d'octubre) quan a C-III i C-VI apareix un màxim de 6 a 7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ el qual no fou detectat a C-IV, perllongant-se fins a finals de novembre. L'aparició del màxim primaveràl és explicable per l'entrada de nutrients que va tenir lloc com a conseqüència de les fortes pluges enregistrades durant el mes de gener de 1988. Pel contrari, la presència d'aquests pic metalimnètics d'algues a la tardor pot explicar-se pel desenvolupament de condicions d'anòxia a l'hipolimnion de les tres cubetes i la resolubilització de nutrients (Golterman, 1977), tot i que no hi ha massa evidències experimentals que donen suport a aquesta hipòtesi (Gasol, 1988). Durant el cicle de 1989 s'ha pogut identificar *Cryptomonas sp.* com a espècie dominant de tals poblacions.

La similitud en la distribució espai temporal de Clorofil·la *a* de les tres cubetes es repeteix per altres variables, que també es troben a les capes superficials de la columna d'aigua. A l'apartat de discussió s'analitza estadísticament quines són aquestes variables, com es distribueixen en el temps, i quines diferències existeixen entre les diferents cubetes i entre els diferents períodes en què es pot dividir el cicle limnològic de l'estany de Banyoles.

3.3. DISCUSSIÓ

3.3.1. Estabilitat de la meromixis

L'estudi limnològic de les tres cubetes situades al Lòbul Nord de l'estany de Banyoles mostra com l'evolució de les seves aigües, tant des d'un punt de vista físico-químic com biològic, es pot relacionar amb el tipus d'estratificació que experimenten. Sota aquest punt de vista es poden distingir dues cubetes meromíctiques (C-III i C-IV) i una holomíctica (C-VI). C-III i C-IV reben aigües sulfatades pel fons, la qual en ser més densa queda separada de la resta de la columna. D'aquestes dues cubetes, C-III presenta una estratificació química gairebé permanent, si bé ocasionalment pot arribar a mesclar-se, tal com va succeir l'any 1979 (Abellà, 1980). C-IV en canvi, poseeix unes característiques molt peculiars pel que fa a la seva estratificació química, doncs es mescla quasi totalment cada any, mostrant una dinàmica anual de pèrdua i recuperació de la meromixis, que determina el seu comportament químic i biològic.

Així doncs, l'estudi de C-IV planteja qüestions relacionades tant amb l'estabilitat de la meromixis com amb la pròpia definició d'aquest terme.

El mot 'meromixis' porta implícit el concepte d'estabilitat, amb una estratificació que es manté fins i tot durant la mescla hivernal. Hutchinson (1957) defineix els llacs meromíctics com aquells que presenten estratificació química parcial o total de manera permanent. Matsuyama (1978) en canvi, observa la possibilitat que alguns llacs meromíctics puguin experimentar una mescla total sota determinades condicions, dintre de les quals es troba la pròpia morfometria de llac. L'estabilitat dels llacs meromíctics pot avaluar-se calculant el treball necessari per a mesclar una porció del monimolimnion al mixolimnion (Hutchinson 1940, Culver 1977) i pot calcular-se per unitat de volum del monimolimnion segons:

$$\frac{\delta W}{\delta V} = \Delta \rho g H$$

on $\Delta \rho$ és la diferència de densitat entre el monimolimnion i el mixolimnion, g és l'acceleració de la gravetat i H la distància entre la porció del monimolimnion que es mescla i el centre de gravetat del mixolimnion. Els llacs meromíctics més estables solen presentar aigües d'origen marí al seu fons,

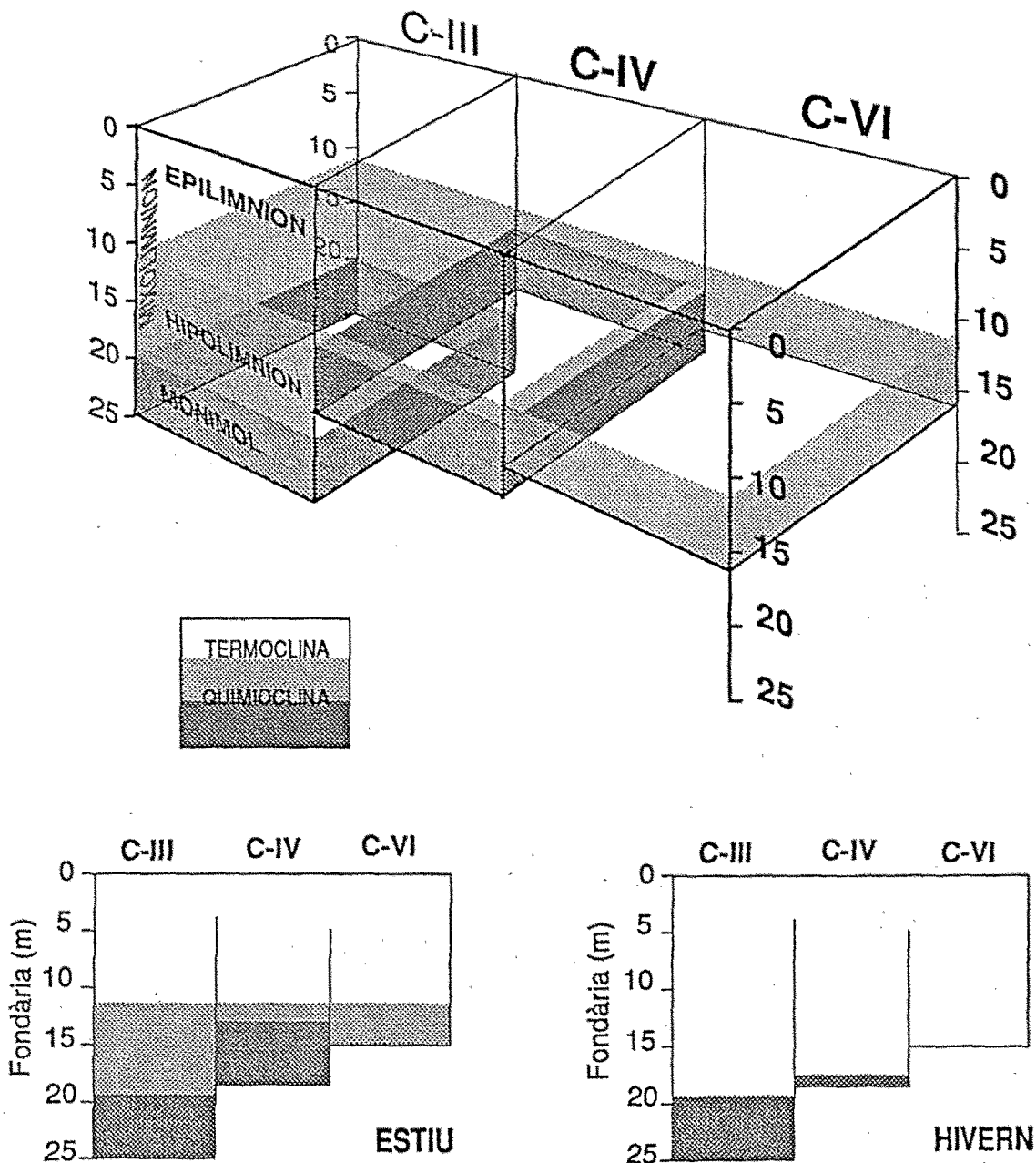


Figura 3.22. Patrons d'estratificació de les tres cubetes estudiades, C-III, C-IV i C-VI. Observi's les diferències estacionals en l'estratificació química (meromixi) de C-IV. **Figura 3.22.** Patterns of estratification of the three studied basins, C-III, C-IV and C-VI. Notice the seasonal differences between the structure of chemical stratification in C-IV.

separades de la resta per una forta picnoclina (Bøyum 1973, Skei 1983). D'altra banda, algunes llacunes costaneres són meromíctiques amb aigua de mar al fons, experimentant episodis de mescla vertical com a conseqüència de l'entrada catastròfica d'aigua marina (Riera et al, 1987). Per tant, cal assignar un cert grau d'inestabilitat a llacs meromíctics a l'hora d'estudiar-los. A l'estany de Banyoles, el grau d'inestabilitat de les cubetes meromíctiques depèn fonamentalment de la seva morfometria. La força del vent i les baixes temperatures són també determinants de la mescla de les cubetes meromíctiques.

La taula 3.1 recull comparativament les característiques més importants de les tres cubetes estudiades. S'observa que les diferències més importants són aquelles que fan referència a la seva estratificació i a les condicions que d'ella se'n deriven. La manca de surgència de C-VI i la seva poca fondària en relació a les altres dues, fan que registri valors de conductivitat més baixos ($1600 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ màxim i $800 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ mínim) així com una temperatura sensiblement més baixa per sota la termoclina (8°C per 12°C a les altres dues). Entre C-III i C-IV les diferències es produeixen bàsicament en la fondària de les cubetes i la localització de les respectives quimioclines. La figura 3.22 mostra esquemàticament els diferents models d'estratificació tèrmica i química observables a les tres cubetes estudiades. C-III i C-IV són meromíctiques mentre que C-VI es comporta com un llac holomíctic. Les tres cubetes comparteixen una mateixa termoclina, la qual es situa als 12 m aproximadament. Pel contrari, C-III i C-IV mostren marcades diferències en relació a les seves característiques meromíctiques. C-III es pot considerar estable, sense que s'hagin observat variacions estacionals en la localització de la quimioclina. C-IV en canvi, experimenta amb la mescla hivernal, una mescla parcial del monimolimnion reduïnt el seu gruix de 5 a 1 metres aproximadament. Observant la localització de la quimioclina de C-III, es pot afirmar que aquesta fondària (19 a 20 m) és el límit inferior de mescla de l'Estany al període estudiat. A C-IV pot trobar-se una mica més amunt degut segurament a la protecció que li confereix el "forat" de la surgència (vegi's mapa batimètric, figura 3.4). Això permet especular que C-VI segurament es mesclaria encara que fos meromíctica, per estar tota ella dintre del que hom pot considerar "fondària de mescla" de l'Estany.

Pel que fa a l'estabilitat de les meromixis de C-III i C-IV es pot afirmar que la primera és més estable que la segona. Això s'explica en base a dues raons. En primer lloc, el treball necessari per mesclar C-III és més gran que per C-IV, sigui quina sigui l'època de l'any, tal i com es mostra a la figura 3.23. Això és degut principalment al fet que la quimioclina de C-III es situa a més profunditat que la de C-IV. D'altra banda, la difusió turbulenta és sempre més

Taula 3.1. Resum d'algunes de les característiques principals de les tres cubetes del lòbul Nord de l'Estany de Banyoles

	C-III	C-IV	C-VI
Fondària màxima (m)	26	19	16
Surgències	1	3	-
Tributaris superficials	-	+	-
Meromixis	+	+	-
Anòxia hipolimnion	+	+	+
Fondària quimioclina (m)	18.5 - 22	12-17.5	
Temperatura (°C)			
màxima epilimnion	23	24	23
mínima hipo-monimol.	12	12	8
Conductivitat ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)			
màxima	2600	2600	1600
mínima	700	900	800
pH			
màxim	7.9	8.0	7.9
mínim	6.7	6.9	7.2
Potencial redox (mV)			
màxim	+ 350	+ 350	+ 340
mínim	- 300	- 300	- 300
Conc. màxima NH_4 (μM)	130	110	140
Conc. màxima Fe^{2+} (μM)	50	10	10
Conc. màxima H_2S (mM)	0.6	0.7	0.35
Aparició màxims algals	Març, maig i setembre	Març i Juny	Març, juny i setembre
Conc. màxima			
Clorofil·la a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	13	16	14
Conc. màxima Bclor a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	4	16	6
Conc. Màxima Bclor e ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	20	70	16

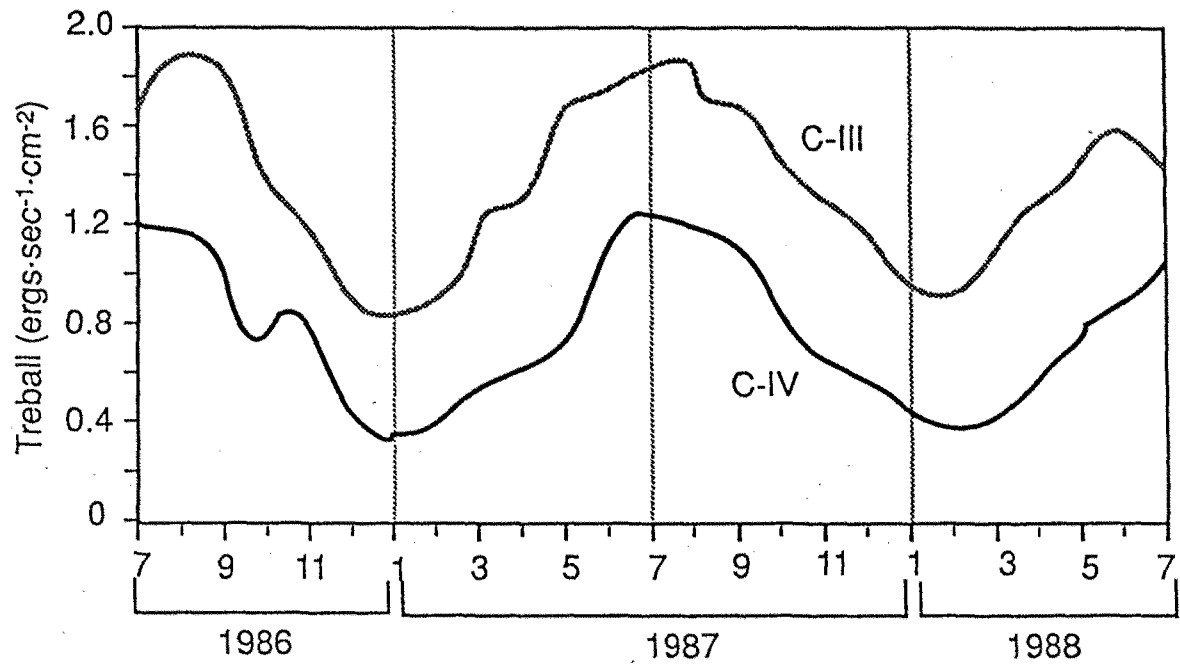


Figura 3.23. Treball necessari per mesclar la columna d'aigua de C-III i C-IV, al període comprès entre 1986 i 1987. **Figure 3.23.** Work needed to mix the water column of C-III and C-IV, during the periode from 1986 to 1988.

intensa a C-IV que a C-III donat que la primera presenta una forma amb àrees superficials molt més extenses (Casamitjana, 1989).

A la taula 3.2 es mostren alguns llacs descrits a la bibliografia, compilant dades sobre la fondària, localització de la quimioclina i valors de densitat o salinitat al mixolimnion i al monimolimnion. Aquests paràmetres ajuden a explicar el fet que alguns d'ells estiguin permanentment estratificats amb independència de la mescla que es produeix al mixolimnion. De vegades però, la mescla hivernal del mixolimnion és suficientment vigorosa com per "erosionar" la quimioclina, fent que aquesta experimenti un sensible desplaçament cap avall, arribant, en casos extrems, a desaparèixer. Això indica que no tots els llacs meromíctics estan permanentment estratificats i sense oscil·lacions apreciables en la situació de la quimioclina, sinó que existeix tota una gama de situacions en relació a la resistència a la mescla. Per tant el concepte d'estabilitat que s'atribueix als llacs meromíctics hauria d'aplicar-se en tant que les condicions meromíctiques estan establertes, independentment del fet que aquestes puguin perdre's en un moment determinat. Sota aquesta perspectiva hom podria agrupar els llacs meromíctics en dos grans grups: estables i inestables. Als primers, la mescla hivernal del mixolimnion no els afecta ni la localització de la quimioclina ni les característiques fisico-químiques del monimolimnion, presentant condicions meromíctiques permanents. El segon grup es caracteritzaria per aquells llacs que experimenten una erosió en la seva quimioclina com a conseqüència de la mescla hivernal, que es tradueix en una pèrdua parcial o total de les condicions meromíctiques. En línies generals s'observa que els llacs que perden parcialment i periòdicament la seva meromixis tenen fondàries inferiors als 20 metres, presentant valors de conductivitat inferiors a $5000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. En llacs meromíctics poc profunds, només els que tenen aigües hipersalines al fons es mantenen estratificats durant tot l'any, com és el cas del Hot Lake, prop de Seattle (Washington, EE.UU.) el qual amb quatre metres manté la meromixis durant tot l'any.

3.3.2. Períodes del cicle limnològic anual de l'estany de Banyoles

A l'apartat de resultats hom ha pogut veure com els cicles limnològics de les tres cubetes estudiades, C-III, C-IV i C-VI, són diferents en tant que ho són les característiques morfològiques de les cubetes. No obstant això existeixen un seguit de trets comuns que defineixen estacionalment aquests cicles, fent que es puguin delimitar etapes a les quals es produeix un fet limnològic propi que marca l'evolució de l'Estany.

Es consideren tres períodes principals en la dinàmica de C-VI i dels mixolimnia de C-III i C-VI, en relació al cicle de producció de matèria

Taula 3.2. Comparació de llacs meromíctics descrits a la bibliografia. Fond Q: fondària a la qual es troba la quimioclina; CMx: conductivitat del mixolimnion; CMn: conductivitat del monimolimnion

Llac	Situació	Fond màx (m)	Fond Q (m)	CMx ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	CMn	Mescia	Referència
Hot Lake	EE.UU.	4	1	57910	60440	-	Anderson, 1958
Lake Kaiike	Japó	10	3	9 ^b	20 ^b	-	Matsuyama, 1977
West Basin Lake	Austràlia	13	10	90000 ^c	130000 ^c	-	Timms, 1971
Waldsea Lake	Canadà	14	3-5	20000-25000	44000	-	Hammer et al., 1978
Deadmoose Lake	Canadà	14	10	28000	43000	-	Parker i Hammer, 1983
Hemlock Lake	EE.UU.	15	10-15	250	1100	-	Fast i Tyler, 1981
Junius Pond 5	EE.UU.	16	9	600	1800	-	Pend i Stewart, 1986
Ace Lake	Antàrtida	23	1	10000	80000	-	Hard i Burton, 1981
Laguna de La Cruz	Cuenca	23	20	450	1800	-	Dades no publicades
Valle de San Juan	Cuba	24		1560	7900	?	Romanenko et al, 1976
Soap Lake	EE.UU.	28	21	22000	66000	-	Anderson, 1958
Lake Bonney	Antàrtida	30	15	800-1000	90000	-	Goldman et al. 1967
Lake Suigetsu	Japó	34	8	1 ^b	8 ^b	-	Matsuyama, 1978
Lake Vanda	Antàrtida	68	45	400-700	80000	-	Goldman et al. 1967
Big Soda Lake	EE.UU.	60	33	60	165	-	Cloern et al., 1983
Lake Strandvatn	Noruega	62	54	34	27700	-	Bremmang, 1974
Framvaren Fjord	Noruega	180	20			-	Skei, 1983
Pretoria Salt Pan	Sud-Àfrica	285	30	80 ^a	250 ^a	-	Ashton i Shoeman, 1988
Orca Basin	Mèxic	380	200	40 ^a	300 ^a	-	Shokes et al., 1977
Lake Salsvatn	Noruega	464	410	50	36000	-	Bøyum, 1973

Taula 3.2. Continuació

Llac	Situació	Fond màx	Fond Q	CMx	CMn	Mescla	Referència
Estany de Banyoles (C-III)		25	19-20	800-1200	1500-2400	+/-	Abellà, 1980
Lake Faro	Sicília	26	13-24	30 ^a	35 ^a	+/-	Sorokin i Donato, 1975
Sulphide pool	Tasmània	2.2	0.5-1	100-400	2500	+	King i Tyler, 1981
Lake Morrison	Tasmània	2.5	1	100	3500	+	King i Tyler, 1981
Solar Lake	Sinai	5	1-5	50 ^b	100 ^b	+	Cohen et al, 1977
Junius Pond 7	EE.UU.	7	2-7	200	340	+	Pendl i Stewart, 1986
Cullera	València	7	3.5	3000	80000	+	Miracle i Vicente, 1983
Lake Fidler	Tasmània	6	2	100-700	5000	+	King i Tyler, 1981
Estanyol del Vilar	Banyoles	8	5-8	1000-1500	1500-2500	+	Brugada, 1986
Laguna del Tejo	Cuenca	10	6-10	350	520	+	Vicente (Com. personal)
L'Estany de Banyoles (C-IV)		18	12-18	800-1200	1500-2400	+	Aquest treball

a= Salinitat (‰)

b= Clorositat (‰)

c= Conductivitat mesurada com a sòlids totals (ppm)

orgànica (biomassa algal) dintre dels quals s'han agrupat les dades.

A. *Període de mescla i càrrega*: (comprès entre desembre i febrer, ambdós inclosos). Les columnes d'aigua (C-VI i mixolimnia de C-III i C-IV) es troben mesclats verticalment, i les pluges, més freqüents en aquesta època de l'any, es tradueixen en un increment en un increment en la càrrega de nutrients.

B. *Període de producció*: (mesos de març, abril i maig). L'increment de la radiació solar, i el conseqüent augment de la temperatura, afavoreix el creixement del fitoplancton expressat com a concentració de clorofil·la α , a partir dels nutrients aportats durant el període anterior. La columna d'aigua comença a estratificar-se.

C. *Període d'anòxia*: (juny a novembre). Durant aquest període es produeixen dos fenòmens de forma simultània que contribueixen a l'esgotament de l'oxigen a tota la columna d'aigua en general i a les capes més profundes en particular. Es tracta de l'estratificació de la columna i la mort de les poblacions algals produïdes durant el període anterior, les quals sedimenten i esgoten l'oxigen en ser activament mineralitzades.

Els criteris seguits per definir aquests períodes són empírics i es basen en l'observació dels diferents fenòmens limnològics que hi tenien lloc, de forma general, a l'estany de Banyoles, al llarg del cicle anual.

Tots aquests períodes queden reflexats a les figures 3.24, 3.25 i 3.26. En elles es representen tots aquells valors que varien significativament amb una significació estadística (f) inferior al 0.05, tal com queda recollit a la taula 3.3. Aquests són la temperatura, la concentració d'oxigen, el pH, el potencial redox i la concentració de Clorofil·la α , com a indicador de la biomassa continguda a la columna d'aigua. Altres variables tal com els nutrients (nitrats) i la conductivitat, no varien responant als criteris explicats, sino que els seus canvis semblen produir-se més aleatòriament. Aquesta consideració es basa en el fet que, tant els nutrients com la conductivitat, sofreixen canvis bruscos, puntuals i imprevisibles en funció de la meteorologia, concretament de la pluviositat.

Al mixolimnion no apareixen diferències significatives entre les cubetes, la qual cosa vol dir que, al contrari del que passa amb el monolimnion, la morfologia de les cubetes no sembla incidir en els principals processos físico-químics i biològics de les capes més superficials de l'Estany. Existeix doncs, una determinada fondària, que inclou l'epilimnion (0 a 12 metres) per sobre de la qual les aigües de les cubetes són comunes. Per tant, les variables representades en conjunt poden servir com a indicadors de

Taula 3.3. Probabilitat d'obtenir valors de **F** més grans que els obtinguts en l'anàlisi de la variància, dels diferents paràmetres mesurats al mixolimnion de C-III i C-IV, i a C-VI per les diferents etapes del cicle anual i per les diferents cubetes. Per més explicació veure text.

	Prob (>F)		
	Entre cubetes	Entre períodes	Interacció
Temperatura	0.212	0.000	0.197
Conductivitat	0.859	0.211	0.986
Densitat	0.441	0.000	0.263
Redox	0.090	0.002	0.007
pH	0.490	0.000	0.794
Oxigen	0.737	0.000	0.167
Nitrats	0.738	0.728	0.637
Nitrits	0.425	0.000	0.385
Clorofil.la a	0.539	0.000	0.942

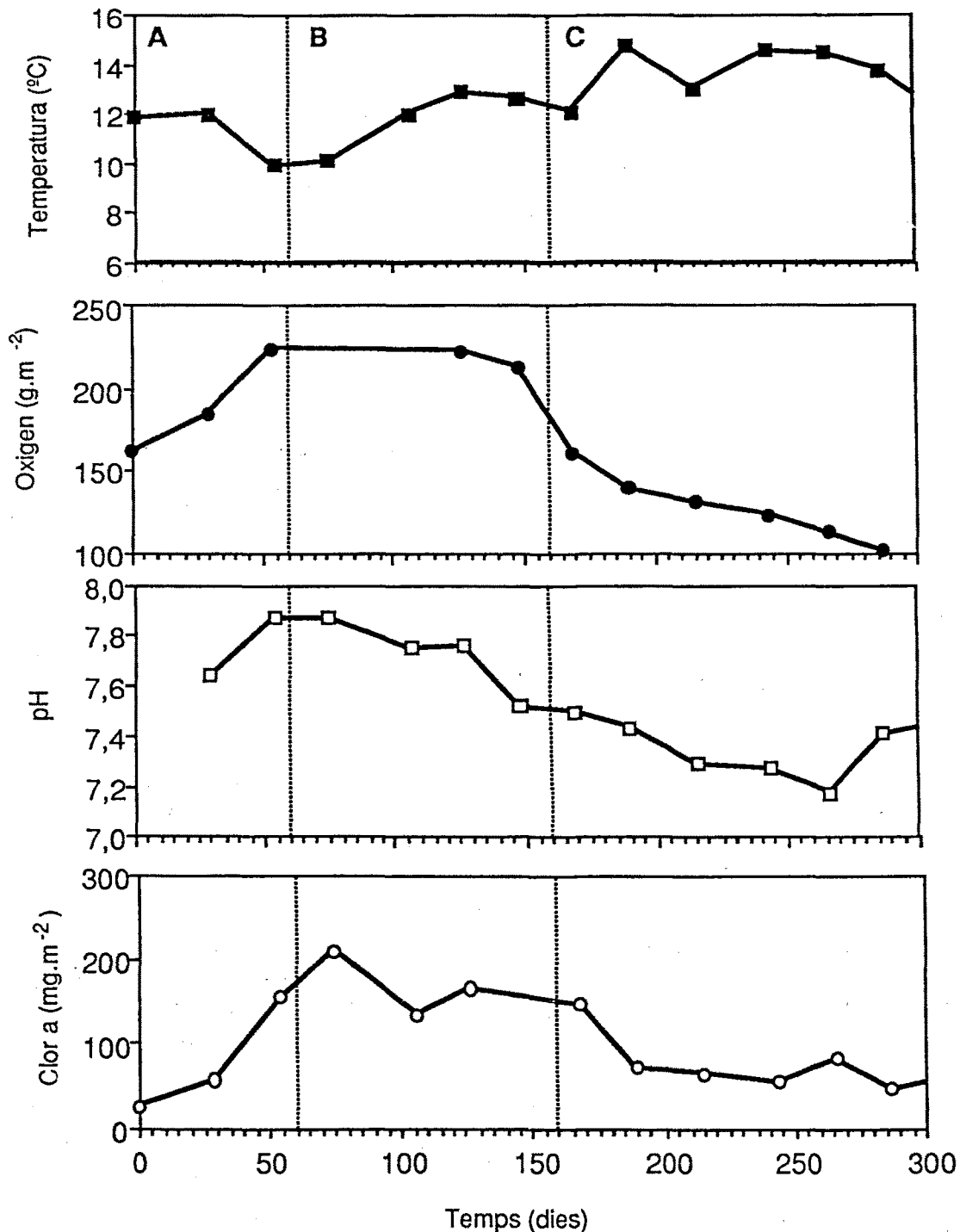


Figura 3.24. Evolució al mixolimnion de C-III de les variables que canvien significativament al llarg dels tres períodes establerts per al cicle limnològic anual de l'Estany de Banyoles. (Temperatura i pH, valors promitjats; Oxigen i Clorofil. a, valors integrats, de 0 a 13 metres). **A:** Mescla i càrrega; **B:** Producció; **C:** Anòxia. Per més explicació veure el text. **Figure 3.24.** Time course in the mixolimnion of C-III of the variables that change significantly along the three annual periods of the Limnological cycle of Banyoles Lake. (Temperature and pH, mean values; Oxygen concentration and Chlorophyll a concentrations, integrated values; from 0 to 13 meters depth). **A:** Mixing and loading; **B:** Production; **C:** Anoxic conditions. For more explanation see text.

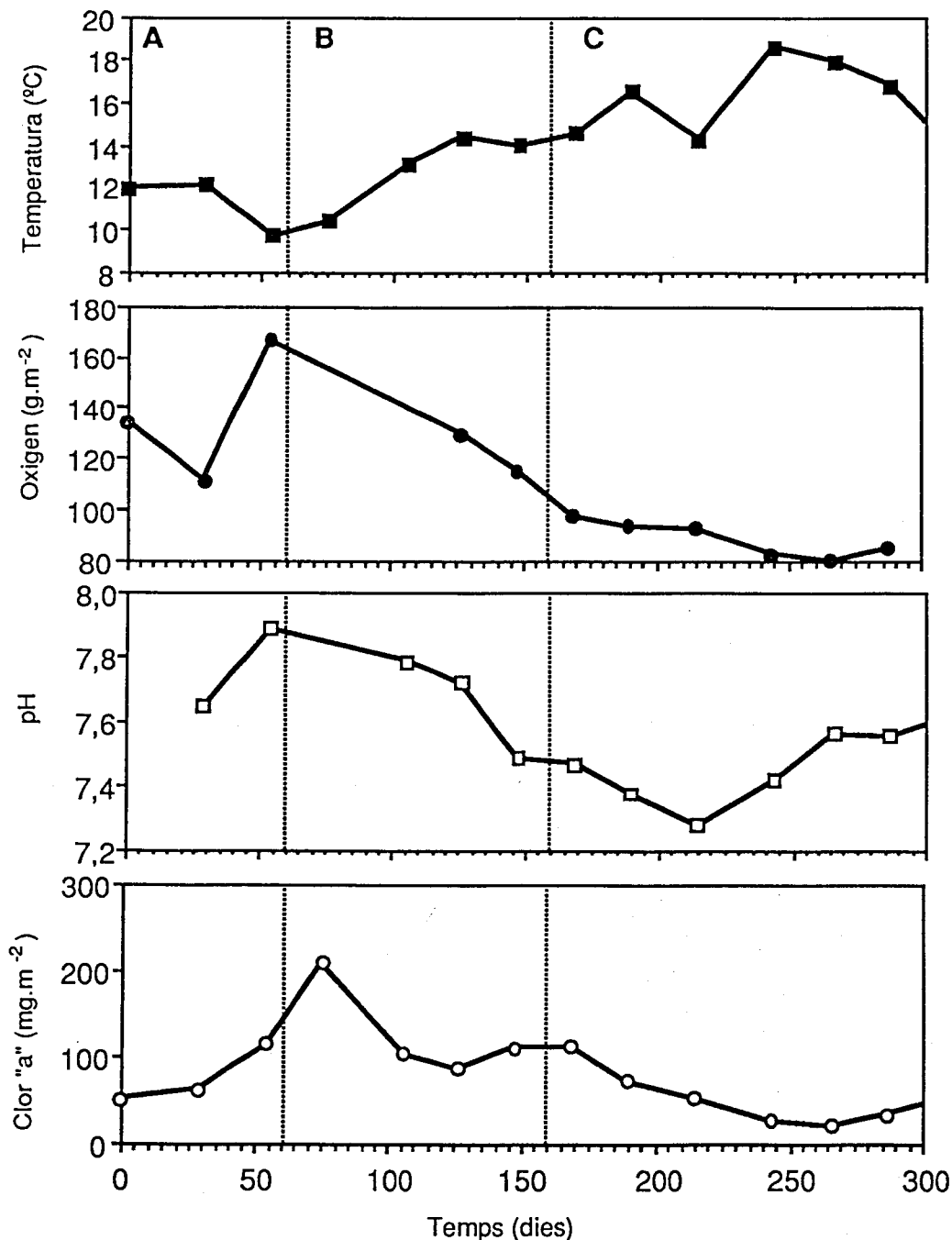


Figura 3.25. Evolució al mixolimnion de C-IV de les variables que canvien significativament al llarg dels tres períodes establerts per al cicle limnològic anual de l'Estany de Banyoles. (Temperatura, pH i potencial redox, valors promitjats; Oxigen i Clorofil.la a, valors integrats, de 0 a 13 metres). **A:** Mescla i càrrega; **B:** Producció; **C:** Anòxia. Per més explicació veure el text. **Figure 3.25.** Time course in the mixolimnion of C-IV of the variables that change significantly along the three annual periods of the Limnological cycle of Banyoles Lake. (Temperature, pH and redox potential, mean values; Oxygen concentration and Chlorophyll a concentrations, integrated values; from 0 to 13 meters depth). **A:** Mixing and loading; **B:** Production; **C:** Anoxic conditions. For more explanation see text.

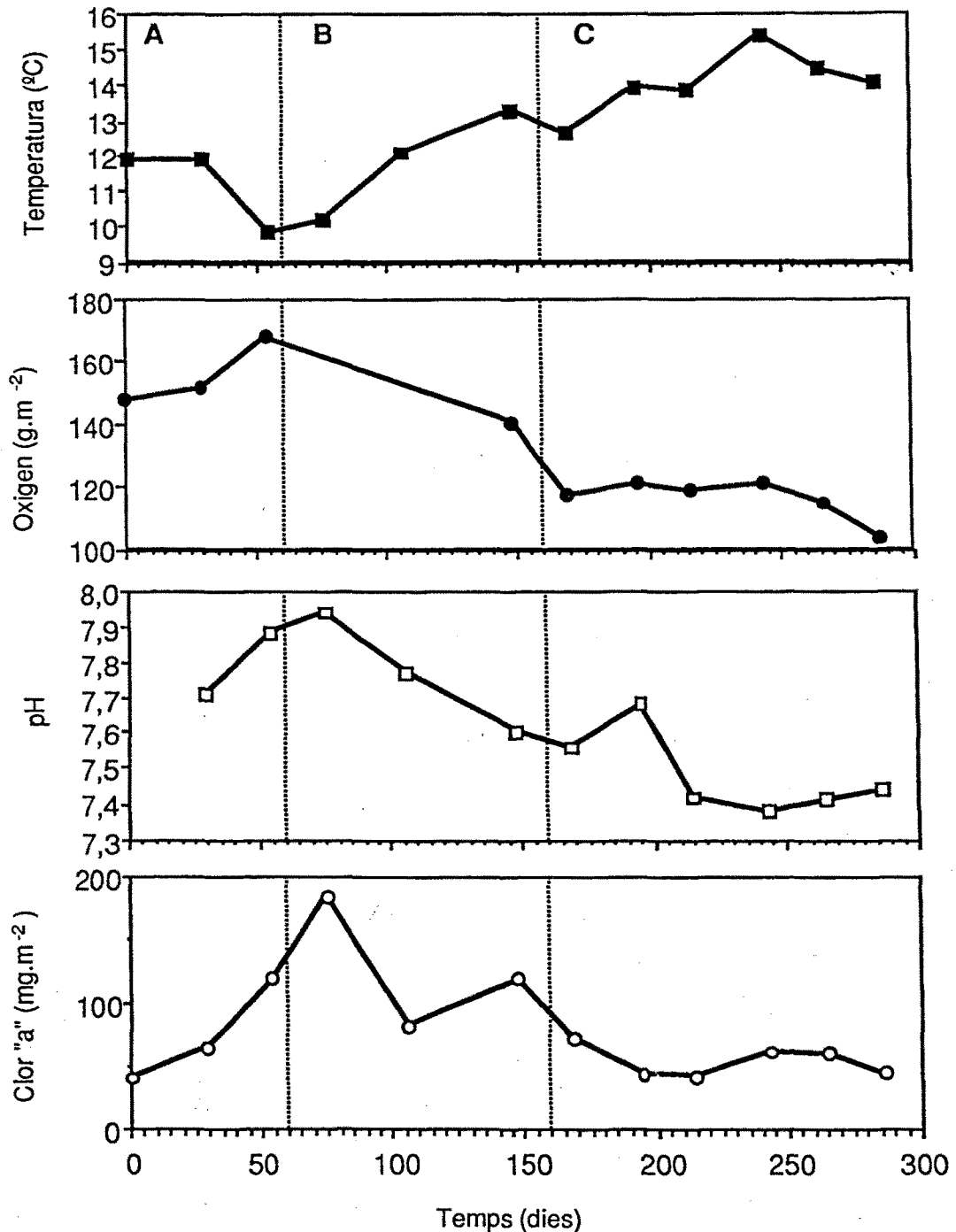


Figura 3.26. Evolució a tota C-VI de les variables que canvien significativament al llarg dels tres períodes establerts per al cicle limnològic anual de l'Estany de Banyoles. (Temperatura, pH i potencial redox, valors promitjats; Oxigen i Clorofil·la a, valors integrats, de 0 a 13 metres). **A:** Mescla i càrrega; **B:** Producció; **C:** Anòxia. Per més explicació veure el text.
Figure 3.26. Time course in the whole C-VI of the variables that change significantly along the three annual periods of the Limnological cycle of Banyoles Lake. (Temperature, pH and redox potential, mean values; Oxygen concentration and Chlorophyll a concentrations, integrated values; from 0 to 13 meters depth). **A:** Mixing and loading; **B:** Production; **C:** Anoxic conditions. For more explanation see text.

l'evolució del cicle limnològic anual de les tres cubetes estudiades, i serien les que hom hauria de tenir en compte a l'hora de confeccionar models predictius en relació al cicle limnològic esmentat.

Així doncs, i tal com es veu tot seguit, només les capes més profundes de la columna d'aigua de les cubetes tenen característiques diferents d'unes cubetes a altres, depenent més directament del tipus d'estratificació de cada cubeta.

L'anàlisi estadística de les variables que defineixen el monimolimnion de C-IV no mostra cap variació significativa, en funció dels períodes aplicats abans al mixolimnion. De fet els processos que hi intervenen en la seva evolució són totalment diferents, conjugant-se l'activitat microbiana dels sediments i de la pròpia columna d'aigua amb els canvis químics que s'en deriven. El monimolimnion de C-III al ser estable, no presenta variacions estacionals importants. No passa el mateix en canvi, amb C-IV. Pel monimolimnion d'aquesta cubeta s'han establert uns períodes que responen a un comportament propi i independent de la resta de la columna, derivat de la pèrdua quasi total, un cop cada any, de la seva estratificació química. Els criteris aplicats es fonamenten en les diferents etapes del cicle del ferro segons Hutchinson (1957):

A. *Oxigenació i mescla*: (de desembre a abril, ambdós inclosos). Durant aquest període es produeix la mescla total de la columna d'aigua de C-IV, incluint-hi el monimolimnion, coincidint generalment amb la mescla hivernal. La mescla total de la columna té una durada relativament curta (un mes aproximadament) donat que la contínua entrada d'aigua sulfatada pel fons re-estableix la meromixi. No obstant això, una vegada format el monimolimnion, aquest encara romandrà sotmès a nous episodis de mescla durant aquest període.

B. *Anòxia*. Comprèn dos sub-períodes:

B₁. *Esgotament de l'oxigen i aparició del ferro soluble* (mesos de maig i juny). Durant aquest període, la columna d'aigua comença a estratificar-se tèrmicament, tot augmentant sensiblement l'estabilitat de la columna d'aigua. El monimolimnion una vegada format de nou, esgota ràpidament l'oxigen i s'hi detecten acumulacions d'amoni i de ferro soluble (Fe²⁺). El sulfhídric no és encara mesurable, per bé que apareixen altes concentracions de Bacterioclorofil·la *a*, indicant la presència d'una densa població de bacteris fototròfics del sofre la qual s'estudia més a fons al següent capítol.

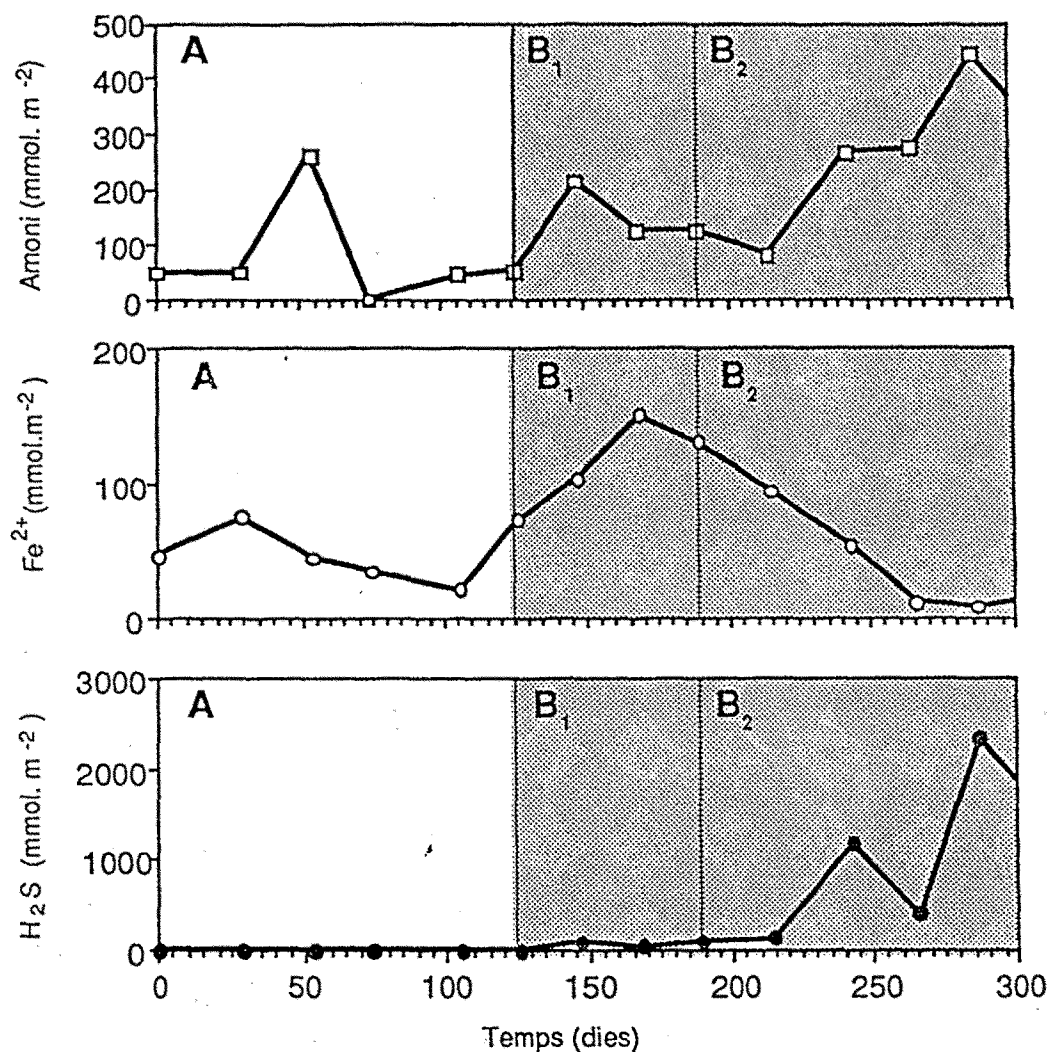


Figura 3.27. Evolució al monimolimnion de C-IV de les variables que canvien significativament al llarg dels dos períodes establerts per al seu cicle limnològic anual (valors integrats de 13 a 18 metres). **A:** Mescla i recuperació; **B₁:** Anòxia i acumulació de Fe²⁺; **B₂:** Acumulació de sulfhídric. Per més explicació veure el text.

Figure 3.27. Time course in the monimolimnion of C-IV of the variables that change significantly along the two annual periods of its Limnological cycle. (integrated values from 13 to 18 meters depth). **A:** Mixing and recovering; **B₁:** Anoxia and Fe²⁺ accumulation; **B₂:** Sulphide accumulation. For more explanation see text.

Taula 3.4. Probabilitat de trobar valors de **F** més gran a l'obtingut en l'anàlisi de la variància, dels diferents paràmetres mesurats al monimolimnia de C-III i C-IV per les diferents etapes del cicle anual aplicades al mixolimnion (C-III i C-IVa) i per les dues etapes aplicades al monimolimnion de C-IV. Per més explicació vegeu text.

	Prob (>F)		
	C-III	C-IV ^a	C-IV ^b
Temperatura	0.094	0.681	0.310
Conductivitat	0.299	0.676	0.678
Densitat	0.027	0.340	0.289
Redox	0.062	0.028	0.102
pH	0.119	0.077	0.312
Amoni	0.008	0.171	0.035
Sulfhídric	0.398	0.163	0.024
Ferro	-*	0.664	0.004

* Al monimolimnion de C-III no es va detectar ferro soluble en cap moment del cicle anual.

B2. Acumulació de sulfhídric (mesos de juliol a novembre). Precipitació del ferro en forma de FeS i aparició de sulfhídric i amoni, en concentracions comparables a les mesurades per al monimolimnion de C-III.

La taula 3.4 mostra com les variables químiques derivades de l'activitat microbiològica si presenten diferències significatives en funció de l'època de l'any, per al criteri finalment aplicat. Aquestes són l'amoni, produït en processos de fermentació i utilització de nitrats en la respiració de la matèria orgànica, el ferro, el qual es redueix químicament i biològicament (veure capítol 5), i el sulfhídric, com a conseqüència de l'activitat sulfat-reductora del sediment compacte.

A la figura 3.27 es representa l'evolució d'aquestes tres variables al llarg de 1988, a C-IV. S'observa que l'augment en la concentració d'amoni és gradual durant la fase B. L'aparició de ferro, pel contrari és més sobtada durant aquest període, experimentant una disminució progressiva amb l'augment del contingut de sulfhídric. Existeix doncs, una clara separació en el temps pel que fa als cicles del ferro i del sofre (sulfhídric), representada pels períodes B₁ i B₂.

La divisió del cicle limnològic anual de les tres cubetes del lòbul nord de l'Estany de Banyoles permet un coneixement més compartimentalitzat de la distribució temporal de les principals variables. Això pot ajudar a comprendre millor els processos que marquen la dinàmica limnològica d'aquestes cubetes. El fet que no s'hagin observat diferències significatives en l'evolució de les tres cubetes pel que fa a les seves aigües més superficials fa que aquest comportament pugui generalitzar-se per a la resta de l'Estany. Les diferències però, s'estableixen en les aigües més profundes on es troben diferències no tant en els valors de les variables mesurades, sinó en la dinàmica amb la que es manifesten. Així trobem que a C-VI les condicions d'anòxia durant l'estiu es desenvolupen d'una forma més gradual que l'observada per al monimolimnion de C-IV una vegada aquest s'ha restablert. En resum, l'agrupació dels processos limnològics mesurats a l'Estany de Banyoles en compartiments temporals suposa un primer pas en l'elaboració d'un model general de funcionament, a partir del qual es pugui anticipar, dintre d'uns marges d'error acceptables, la resposta de l'Estany davant dels canvis dels paràmetres interns i externs. No obstant això, hom és conscient que caldrà encara el seguiment de força cicles anuals més per tenir una gama més àmplia de situacions, a partir de la qual es pugui augmentar la precisió del model.

