

DINÁMICA POBLACIONAL COMPARADA  
DE BACTERIAS FOTOSINTÉTICAS PLANCTÓNICAS

CARLES ABELLÀ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE CIENCIAS



DINÁMICA POBLACIONAL COMPARADA DE  
BACTERIAS FOTOSINTÉTICAS PLANCTÓNICAS

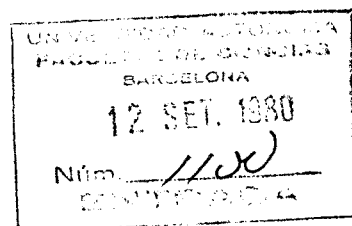
CARLES ABELLÀ

1980

0.224583

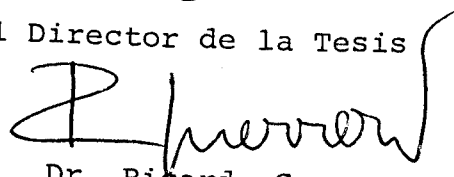
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA - FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA



DINÁMICA POBLACIONAL COMPARADA DE  
BACTERIAS FOTOSINTÉTICAS PLANCTÓNICAS



Vº Bº  
El Director de la Tesis  
  
Dr. Ricardo Guerrero

Memoria redactada para optar al  
Grado de Doctor en Ciencias,  
Sección de Biológicas, por la  
Universidad Autónoma de Barcelona,  
por Carles Abellà Ametller



Bellaterra, julio de 1980

RICARDO GUERRERO MORENO, COORDINADOR DEL DEPARTAMENTO  
DE MICROBIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA,

CERTIFICA: que el licenciado en Ciencias Biológicas  
D. CARLES ABELLÀ AMETLLER, ha realizado  
en este Departamento de Microbiología el  
trabajo que bajo el título "DINÁMICA  
POBLACIONAL COMPARADA DE BACTERIAS FOTO-  
SINTÉTICAS PLANCTÓNICAS" presenta en esta  
Memoria, la cual constituye su Tesis para  
optar al grado de Doctor en Ciencias.

y para que así conste, y tenga los efectos que corres-  
pondan, en cumplimiento de la legislación vigente, ex-  
tiendo el presente certificado en Bellaterra, a treinta  
de julio de mil novecientos ochenta.

Fdo.:Ricardo Guerrero  
Coordinador del Departamento  
de Microbiología

A Rosa i Patrícia

I ell a mi: "Tot allò que allí s'espera  
per l'aigua bruta ja endevinaràs si no t'ho  
amaga massa la fumera".

Dante Alighieri. La Divina Comèdia,  
Cant VIII, 12.

"Morgat, Morgat, vés-t'en a casa o seràs  
anegat".

Tradició oral de Banyoles

El objetivo principal del presente trabajo es el estudio de la dinámica de las poblaciones de bacterias fotosintéticas presentes en distintas masas de agua de la zona cárstica de Banyoles. Dada la existencia de variadas situaciones limnológicas, es posible comparar los diferentes comportamientos de esas poblaciones y su importancia como productores primarios en las capas anaeróbicas de agua.

Se ha efectuado un estudio intensivo del hábitat de esas poblaciones desde el punto de vista de su variación espacio-temporal. Las masas de agua estudiadas presentan dos estructuras limnológicas distintas. Unas son meromícticas (Banyoles III y Vilà) y otras holomícticas (Sisó, Coromines y Negre 1). La termoclina y la quemoclina son los dos procesos físicos con mayor incidencia sobre la dinámica de las poblaciones estudiadas. Ambos procesos estructuran la columna de agua mediante gradientes de densidad térmicos o químicos. La termoclina favorece la población de Chromatium, que es móvil y ocupa posiciones más próximas a la superficie, con lo que actúa como un filtro de luz biológico y domina sobre las poblaciones de Chlorobium. Estas, por el contrario, son inmóviles y ocupan posiciones más profundas.

En las lagunas estudiadas, el elemento catalizador en las capas anaeróbicas es el sulfato, el cual genera un ciclo del azufre muy activo, con una alta velocidad de reciclado entre los distintos compuestos sulfurados. El sulfhídrico es el compuesto central de este ciclo, ya que determina la existencia de condiciones anaeróbicas y es utilizado como fuente de electrones por las bacterias fotosintéticas. En general, estas bacterias no están adaptadas a fuertes cambios en la concentración de sulfhídrico (sobre todo Chromatium) y, fuera de su óptimo, dejan de formar poblaciones densas. La concentración de este compuesto actúa, pues, como agente selectivo que define la población que dominará en un momento y lugar determinados.

La luz, junto con la concentración de sulfhídrico, es uno de los parámetros que más influyen en el desarrollo de las poblaciones de bacterias fotosintéticas, y a su vez uno de los más influidos por la presencia de ellas. La intensidad y el espectro de la luz que llega a las poblaciones estudiadas sigue una dinámica compleja que depende de la intensidad de la irradiación solar (variable estacionalmente) y de la transparencia del agua, la cual se ve afectada por el número y tipo de partículas en suspensión. Por ello, es frecuente que las épocas de máxima irradiación solar no coincidan con las de máxima penetración de la luz. Durante el verano, la intensidad de luz que alcanza al conjunto de la comunidad de bacterias fotosintéticas es igual o inferior a la que llega en invierno.



Las poblaciones de bacterias fotosintéticas dominantes (Chromatium minus, Chlorobium phaeobacteroides y Chlorobium limicola) poseen una serie de mecanismos para adaptarse a la intensidad y calidad (espectro) de la luz que les llega, los cuales, a su vez, están muy afectados por la filtración selectiva de los propios organismos fotosintéticos y por la columna de agua. Dada la escasa diversidad de especies y la diferencia de tamaño y fisiología entre las poblaciones mayoritarias, ha sido posible seguir la dinámica de cada una de ellas tanto respecto a la biomasa como también respecto a los pigmentos fotosintéticos (bacterioclorofilas y carotenoides).

Ambos grupos de pigmentos aumentan siempre en relación con la disminución de la intensidad de luz que llega a la población. La variación del contenido específico de los pigmentos en estas bacterias depende de una serie de parámetros que inciden sobre ellos. El contenido específico de los carotenoides sigue una dinámica parecida a la de las bacterioclorofilas. Sin embargo, la proporción carotenoides/bacterioclorofilas tiende a aumentar en presencia de una filtración selectiva, ya sea por poblaciones algales, por las propias bacterias fotosintéticas o por la columna de agua. Los carotenoides utilizan longitudes de onda complementarias a las bacterioclorofilas, con lo cual tienen un papel importante como pigmentos accesorios de antena en condiciones de luz limitantes.

Por otra parte, se han analizado otros parámetros bioquímicos, como la concentración de ATP o de proteínas, y se ha llegado a la conclusión de que estos análisis son muy útiles para apreciar el estado de actividad, pero no para discriminar entre las distintas poblaciones.

Por último, se propone un modelo general para explicar la dinámica poblacional de estas bacterias, el cual es extrapolable a otras situaciones. Este modelo tiene en cuenta la evolución de la estratificación de la columna de agua a lo largo del ciclo anual, los gradientes que se generan y las diferentes estrategias de las poblaciones estudiadas. Así pues, las aportaciones más importantes de este trabajo están en relación con el estudio completo y comparado de las diferentes dinámicas de poblaciones de bacterias fotosintéticas en su hábitat natural, avanzándose en el conocimiento sobre el comportamiento de estas poblaciones, y cuantificando con mayor exactitud la importancia real de estas bacterias como productores primarios en los ecosistemas anaerobios lacustres.

# I N D I C E

	<u>Pág</u>
Resumen	vi
1. I N T R O D U C C I Ó N	1
2. M A T E R I A L Y M É T O D O S	14
2.1 Zona de estudio	14
2.2 Parámetros morfométricos de las masas de agua estudiadas	18
2.3 Métodos de muestreo y preparación de las muestras.	20
2.4 Filtración	21
2.5 Características físicas del agua	22
2.5.1 Determinación de la temperatura	22
2.5.2 Determinación del pH	23
2.5.3 Determinación del potencial de óxido- reducción	23
2.5.4 Determinación de la conductividad	23
2.5.5 Determinación de la densidad de las muestras de agua	24
2.5.6 Determinación de la transparencia de la columna de agua. Disco de Secchi	24
2.5.7 Penetración de la luz	25
2.5.8 Determinación de la turbiedad	26
2.6 Características químicas del agua	26
2.6.1. Determinación de la concentración de sulfatos	26
2.6.2 Determinación de la concentración de nitratos y nitritos	27
2.6.3 Determinación de la concentración de amonio	28
2.6.4 Determinación de la concentración de fosfatos solubles	28
2.6.5 Determinación de la concentración de sulfhídrico	29
2.6.6 Determinación de la concentración de oxígeno disuelto	29
2.6.7 Determinación de la alcalinidad (reserva alcalina)	30
2.6.8 Determinación de la concentración de cationes	31

	<u>Pág</u>
2.7 Parámetros biológicos	32
2.7.1 Determinación del número de microorganismos por recuento directo	32
2.7.2 Estima de la biomasa por recuento directo	33
2.7.3 Identificación de microorganismos	34
2.7.4 Medios de cultivo	35
2.8 Parámetros bioquímicos	39
2.8.1 Determinación de la concentración de proteínas	39
2.8.2 Determinación de la concentración de trifosfato de adenosina	40
2.8.3 Determinación cualitativa de los pigmentos fo- tosintéticos. Espectros de absorción "in vivo" y en extracto acetónico	44
2.8.4 Determinación cuantitativa de los pigmentos fotosintéticos. Concentración de clorofilas y bacterioclorofilas. Concentración de caro- tenoides	45
2.9 Determinación de la producción primaria fotosin- tética en la columna de agua. Producción primaria retenida en células y producción primaria total	48
2.10 Determinación de la actividad sulfatorreductora en la columna de agua	51
3. R E S U L T A D O S	53
3.1 Parámetros morfométricos de las masas de agua estudiadas	53
3.1.1 Lago de Banyoles. Aspectos generales	53
3.1.2 Morfometría de las cubetas del lago de Banyoles	57
3.1.3 Lagunas próximas al lago principal (Vilà, Sisó y Silet)	66
3.1.4 Lagunas de Sant Miquel de Campmajor (Coromines y Negre 1)	74
3.2 Características físicas del agua	81
3.2.1 Distribución de la temperatura	82
3.2.2 Distribución del pH	89
3.2.3 Potencial de óxido-reducción de la columna de agua, del sedimento compacto y del lodo en suspensión	95
3.2.4 Densidad de las muestras de agua	105

3.2.5	Conductividad	...	108
3.2.6	Transparencia con el disco de Secchi	..	114
3.2.7	Penetración de la luz	...	116
3.2.8	Turbiedad	...	121
3.3	Características químicas del agua	...	125
3.3.1	Sulfatos	...	125
3.3.2	Nitratos	...	135
3.3.3	Nitritos	...	138
3.3.4	Amonio	...	141
3.3.5	Fosfatos	...	144
3.3.6	Sulfhídrico	...	147
3.3.7	Oxígeno	...	157
3.3.8	Alcalinidad(reserva alcalina)	...	162
3.3.9	Concentración de cationes	...	165
3.4	Parámetros biológicos	...	171
3.4.1	Identificación de los microorganismos más frecuentes en las comunidades estudiadas	..	171
3.4.2	Recuento de bacterias fotosintéticas...	...	176
3.4.3	Biomasa bacteriana	...	191
3.4.4	Concentración de proteínas	...	204
3.4.5	Concentración de trifosfato de adenosina	..	208
3.4.6	Recuento y actividad de las bacterias sulfatorreductoras en el agua	...	214
3.5	Concentración de pigmentos y actividad de las bacterias fotosintéticas	...	217
3.5.1	Espectros de absorción de los pigmentos fotosintéticos de las poblaciones naturales		217
3.5.2	Concentración de las bacterioclorofilas	...	226
3.5.3	Concentración de los carotenoides bacterianos		241
3.5.4	Dinámica poblacional y contenido en pigmentos a lo largo de un ciclo anual	...	252
3.5.5	Actividad de las bacterias fotosintéticas. Producción primaria	...	268
3.5.6	Producción primaria potencial	...	282
3.5.7	Producción primaria total y excreción de las poblaciones bacterianas fotosintéticas	...	284

4. D I S C U S I Ó N	290
4.1 Estructura de la columna de agua y parámetros fisicoquímicos	290
4.2 Diversidad microbiana	303
4.3 Dinámica poblacional	313
4.4 Producción primaria	325
4.5 Consideraciones finales. Ecosistema anaeróbicos ..	331
5. C O N C L U S I O N E S	335
6. B I B L I O G R A F Í A	345

## 1. INTRODUCCIÓN

La ecología microbiana es una de las ciencias más jóvenes dentro de las ramas actuales de la microbiología. El estudio de los microorganismos en sus medios naturales se ha visto obligado a utilizar conocimientos y técnicas de muy diversos campos científicos, y se ha enfrentado con las dificultades propias de los ambientes donde se desarrollan los microorganismos. La estructura de los microhábitats es fundamentalmente distinta de los hábitats clásicos de los animales y plantas, debido a la existencia de microgradientes en los mismos.

Existen dos formas principales de estudiar los problemas ecológicos generales. La primera da más importancia al hábitat, y es característica del limnólogo, oceanógrafo o edafólogo. La segunda considera principalmente los organismos y lateralmente el hábitat (ecólogos vegetales y animales). La ecología microbiana integra estos dos enfoques, ya que los microorganismos están tan íntimamente ligados a su ambiente que no puede prescindirse de él, ni tampoco de las especies, ya que muchos experimentos complementarios se realizan en cultivos puros de laboratorio.

El concepto de nicho ecológico aplicado a los microorganismos tiene connotaciones propias. La clásica definición de Hutchinson concibe el nicho como una representación geométrica en un espacio de  $n$  dimensiones combinadas (hipervolumen) en las que una especie sobrevive indefinidamente. Este concepto abstracto de nicho expresa la posición de un organismo en el ecosistema como resultante de las adaptaciones estructurales del organismo, sus respuestas fisiológicas y su comportamiento. Utilizando el símil de Odum (1971) el hábitat es el "domicilio" y el nicho la

"profesión" biológica. En el caso de los microorganismos, el hábitat espacial es extremadamente pequeño, por lo que los factores determinantes son las características fisicoquímicas y los microgradientes, más que la estructura propia del mismo. El nicho ecológico se basa en el caso de los microorganismos casi exclusivamente en sus capacidades fisiológicas. En el hiperespacio definido por Hutchinson los factores principales serían siempre características fisicoquímicas, y no aspectos de comportamiento o depredación. La "profesión" de los microorganismos está pues íntimamente ligada a su microhábitat o "domicilio".

Al comparar los ambientes acuáticos y terrestres se observa que estos últimos son, si cabe, más complejos y difíciles de estudiar. Ello es debido a la diversidad espacial de su estructura, que presenta grandes variaciones espaciales de los distintos gradientes fisicoquímicos. En los ambientes acuáticos, e incluso en los sedimentos, el estudio del hábitat se hace en función de la existencia de cierta uniformidad ya que se trata de un medio fundamentalmente isotrópico.

En el caso de los ambientes anaerobios donde se encuentran las bacterias fotosintéticas que aparecen en el monimolimnion e hipolimnion de algunos lagos, los parámetros fisicoquímicos principales (turbiedad, luz, nutrientes inorgánicos) no suelen ser uniformes, ya que existe cierto aislamiento de la circulación general. Por ello, esos parámetros están sometidos a fuertes gradientes en sentido inverso, como es el caso del oxígeno, luz y sulfhídrico. Estas zonas de agua anaerobia tienen una composición fisicoquímica más parecida a la del agua intersticial del sedimento que a la del agua libre cercana a la superficie.

En los ambientes acuáticos existen dos tipos fisiológicos de microorganismos, heterótrofos y autótrofos. Dentro de los heterótrofos, las bacterias son con mucho los componentes más importantes, seguidas por las levaduras y los protozoos. El grupo de los autótrofos comprende a las algas, bacterias quemolitotrofas y bacterias fotosintéticas.

Ambos grupos tienen diversa importancia en los procesos microbiológicos de las aguas y sedimentos. Los microorganismos heterótrofos reciclan la materia orgánica producida por los autótrofos, y lo hacen con una elevada actividad en relación a su biomasa. La utilización de la materia orgánica se produce en diferentes condiciones ambientales, controladas específicamente por el potencial de óxido-reducción, ya que éste determina el tipo de proceso de descomposición (oxidativo aerobio, fermentativo, u oxidativo anaerobio).

Los trabajos actuales sobre los microorganismos heterotróficos se centran en la medición de su actividad (evaluada a través del consumo de glucosa, acetato, sulfato, etc., o de la producción de diversos gases), más que en los estudios taxonómicos o de dinámica anual.

La descomposición heterotrófica de la materia orgánica sigue vías metabólicas distintas en función de las condiciones ambientales de óxido-reducción. Los procesos de mineralización predominan desde + 450 mV hasta + 200 mV. Cuando este potencial redox se sitúa entre + 200 mV y + 100 mV predominan los procesos de fermentación. A partir de + 100 mV hasta alrededor de -250 mV aparecen los procesos de respiración anaerobia tales como la reducción de nitrato y sulfato. Finalmente, alrededor de los -400



mV, el carbonato actúa de aceptor de electrones, dando origen a la producción de metano. A partir de ese punto, la materia orgánica no puede ser utilizada y tan sólo puede ser reciclada de nuevo si se restablecen las condiciones aerobias. Si no ocurre así, queda "fossilizada" en el sedimento como materia orgánica recalcitrante.

Uno de los problemas fundamentales que presenta el estudio de las bacterias heterotróficas planctónicas es la determinación de su actividad real y de su biomasa. Ello se debe a que no existe una técnica común que permita un análisis de la actividad de los diferentes grupos, ni tampoco un sistema completamente fiable para evaluar la biomasa activa. Los recuentos viables en placa subestiman grandemente el número real (Overbeck 1974). El número total calculado por recuento al microscopio puede llegar a ser 100 veces superior al detectado en placa. Diversos autores han utilizado conceptos como flora zimógena, la cual puede cultivarse en placa, y flora autóctona (oligocarbófila), la cual no altera su número al añadir materia orgánica al medio y que por lo tanto, es difícilmente cultivable. Una de las principales limitaciones en el estudio de la flora heterotrófica autóctona es la falta de medios de cultivo adecuados que seleccionen lo menos posible a la población (Guerrero et al. 1975), ya que no existe un medio de cultivo universal que garantice todos los requerimientos nutritivos de las especies bacterianas.

El estudio ecológico del medio acuático se ha centrado principalmente en los aspectos físicos, químicos, hidrológicos y biológicos. Los estudios biológicos que más han interesado a los limnólogos han sido los referentes al zooplancton y fitoplancton, seguidos por los estudios sobre vertebrados, macrófitos y los organismos bentónicos.

La microbiología acuática ha sido generalmente ignorada por los limnólogos en el estudio integral de los ecosistemas acuáticos. Los medios acuáticos son excesivamente diluidos para soportar una biomasa elevada de microorganismos, aunque ello no implica que en el ciclo anual de los lagos no se presenten condiciones que permitan una elevada biomasa y actividad bacterianas. Las interrelaciones tróficas entre productores primarios (principalmente fitoplancton) y bacterias heterotróficas, no siempre es lineal ya que a lo largo de las fases de crecimiento poblacional y sobre todo durante los máximos algales se presentan fenómenos de sinergismo e inhibición (Chrost & Brzeska 1978).

En los ecosistemas lacustres, la interacción de la masa de agua con los sedimentos es fundamental para la comprensión de la dinámica general de los mismos. El sedimento determina muchos de los procesos que tienen lugar en la columna de agua y más aún cuanto mayor sea la superficie de contacto. La materia orgánica y nutrientes inorgánicos se reciclan principalmente en el sedimento y sólo en una pequeña parte en el agua.

En los ambientes lacustres sulfatados el ciclo de azufre es el más importante cuantitativamente ya que confiere determinadas características al conjunto hasta el punto de poderse definir un "sulfuretum" (Baas-Becking 1925) como el conjunto de organismos que alteran cíclicamente el estado de oxidación del azufre.

El ciclo del azufre se puede dividir en dos subciclos con diferente velocidad de recambio. En uno de ellos el azufre se incorpora en compuestos orgánicos (como proteínas o coenzimas). Todos los organismos presentes en el agua juegan en este subciclo un papel importante. El azufre incorporado procede fundamental-

mente del sulfato y se libera en forma de sulfhídrico cuando el organismo muere y se descompone. La velocidad de recambio del azufre en este subciclo está controlada por la vida media de los organismos, siempre que no haya variaciones grandes de biomasa y el crecimiento de la población sea equilibrado. Los organismos contienen en conjunto sólo 1-2% de azufre de su peso seco. Por lo tanto, este subciclo (reducción asimilatoria) tiene cuantitativamente escasa importancia, debido a que el azufre no actúa como transportador de electrones sino que tan sólo tiene un papel estructural o enzimático.

El segundo subciclo (llamado también ciclo microbiano del azufre, o reducción desasimilatoria) se presenta solamente en ambientes anaerobios, y es el resultado de la actividad de una serie de grupos de microorganismos que cambian de una manera activa y cíclica el estado de oxidación del azufre. La velocidad de recambio del azufre en este segundo subciclo es muy superior a la del primero, ya que los diferentes compuestos del azufre son utilizados como transportadores de electrones.

En estos ecosistemas anaeróbicos naturales dominados por el ciclo del azufre es posible definir un ciclo cerrado de materia, con bacterias fotosintéticas como productores primarios que fijan  $\text{CO}_2$  y excretan sustancias al medio. La materia orgánica producida, ya sea particulada o disuelta, es reutilizada como fuente de energía por los microorganismos heterotróficos principalmente del sedimento, entre otros, por Desulfovibrio). Este organismo utiliza sulfato como aceptor terminal y desprende sulfhídrico, que es utilizado por los productores primarios (bacterias) de este ecosistema anaerobio. Por otra parte, también las bacterias fotosintéticas son capaces de utilizar materia or-

gánica como fuente de carbono celular, incorporando principalmente ácidos orgánicos sencillos (acético, butírico). Se establece, por lo tanto, un circuito de materia que tiene salidas hacia la zona aerobia mediante los animales planctónicos filtradores. Por el sedimento también se pierde materia orgánica que no es reciclada totalmente por las poblaciones heterotróficas del mismo.

Se conoce relativamente poco la importancia real que las poblaciones bacterianas fotosintéticas tienen en los ciclos naturales. También se desconoce la sucesión y los fenómenos de competencia en relación con la dinámica de las diferentes poblaciones. Por otra parte, tampoco se han cuantificado, dentro del ciclo del azufre del agua, las relaciones entre las bacterias sulfatorreductoras del sedimento y las bacterias fotosintéticas planctónicas.

La presencia de bacterias fotosintéticas en los lagos y sedimentos lacustres fue mencionada ya en los trabajos, pioneros en muchos aspectos, de Bavendam (1924), Utermöhl (1925), Ruttner (1937), Winogradsky (1949), Larsen (1954) y Kaiser (1966).

Si bien los estudios puntuales sobre bacterias fotosintéticas en los lagos son relativamente abundantes, se carece prácticamente de información acerca de la dinámica anual de las poblaciones fotosintéticas como productores primarios en los ecosistemas anaerobios, se hace patente la necesidad de estudios encaminados al conocimiento de la dinámica poblacional de tales bacterias para poder precisar su función y nicho ecológico en los ecosistemas acuáticos (Guerrero & Abellá 1978, Abellá et al. 1980).

Las bacterias fotosintéticas han sido utilizadas en muchos estudios bioquímicos modernos, algunos de ellos con importancia

histórica como los conceptos del principio de la bioquímica unitaria por Kluyver & Van Niel (1956). Otros estudios actuales se orientan hacia el mecanismo de la fotosíntesis bacteriana (Clayton & Sistrom 1978, Beeftink & Van Gemerden 1979) pero, en cambio, los estudios de campo son todavía escasos en la actualidad (Gorlenko et al. 1978 Bergstein et al. 1979, Indrebø et al. 1979a y b) y más escasos aún son los estudios de campo que siguen ciclos anuales de estas poblaciones (Cohen et al. 1977b, c; Lawrence et al. 1978).

Otro aspecto necesario para la interpretación de la dinámica de las poblaciones bacterianas fotosintéticas es el estudio de la competencia por la luz en la columna de agua. Estos fenómenos de competencia han sido poco estudiados en la literatura (Matheron & Baulaigue 1977, Stephanopoulos & Fredrickson 1979).

El nivel actual de conocimientos está pues limitado, en los estudios ecológicos, por la falta de datos sobre la dinámica de las poblaciones no sólo en función de los factores ambientales sino también de las interacciones que desarrollan entre sí las diferentes poblaciones. Los datos sobre los estudios de la producción primaria todavía son relativamente incompletos y no permiten dar una idea clara de la aportación real de materia orgánica en los ecosistemas anaerobios donde las bacterias fotosintéticas desarrollan su ciclo productivo.

Los principales objetivos del presente trabajo son:

- (a) el estudio poblacional de las bacterias relacionadas con el ciclo del azufre en diferentes ecosistemas lacustres;
- (b) la comparación de la dinámica espaciotemporal de las poblaciones bacterianas en los diferentes sistemas lacustres de la zona de Banyoles (Girona);
- (c) el estudio de la competencia por la luz entre las diferentes poblaciones bacterianas fotosintéticas;
- (d) el estudio de la producción primaria de estas bacterias y
- (e) la aplicación de los diferentes parámetros fisicoquímicos y biológicos en el análisis ecológico de poblaciones microbianas naturales.

El enfoque del trabajo es fundamentalmente mixto entre técnicas de campo y laboratorio. La primera parte del estudio se ha basado en la definición del hábitat por los parámetros fisicoquímicos y limnológicos de las distintas lagunas y cubetas estudiadas y en la puesta a punto de las distintas técnicas de muestreo y de análisis en el laboratorio. A la vez, se analizaron parámetros biológicos propios de estas poblaciones. Estos análisis de campo se efectuaron durante varios ciclos anuales en las diferentes masas de agua estudiadas.

La Memoria que se presenta a continuación se ha estructurado de la siguiente forma:

El apartado Material y Métodos, describe inicialmente la zona geográfica de estudio así como las características morfológicas más importantes para la comprensión del funcionamiento de las masas de agua estudiadas. A continuación se describen los métodos de estudio de las características fisicoquímicas del agua y los parámetros biológicos de las poblaciones bacterianas. También se incluyen en este apartado los métodos de análisis de la biomasa bacteriana, así como los métodos de identificación de los microorganismos estudiados y los medios de cultivo utilizados. Por último, se describen los métodos de análisis bioquímicos, como proteínas, trifosfato de adenosina o pigmentos fotosintéticos, además de los métodos de estudio de la producción primaria fotosintética y la actividad sulfatorreductora de las poblaciones presentes en la columna de agua.

Los Resultados han sido subdivididos en cinco grandes grupos en los que se recogen los datos obtenidos respecto a:

(a) Parámetros morfométricos de las masas de agua estudiadas.

En este apartado se presentan las últimas aportaciones en las batimetrías del lago de Banyoles y el resto de lagunas estudiadas y se destaca su importancia para la dinámica de las poblaciones bacterianas.

(b) Características físicas del agua, resaltando los parámetros que implican una cierta estructuración de la columna de agua, como la evolución de la termoclina y la quemoclina, además de características tan importantes como la transparencia del agua y la penetración de la luz, fuente de energía para las poblaciones de bacterias fotosintéticas. Así mismo se presentan los resultados de la turbiedad del agua, que sirven para detectar la localización de las poblaciones de bacterias presen-

tes en la columna de agua.

(c) Características químicas del agua, resaltando los parámetros con mayor sentido biológico para las poblaciones de bacterias fotosintéticas, como el sulfato, nitrato, fosfato y sulfhídrico (compuesto que actúa de regulador directo de las diferentes poblaciones presentes en estos ecosistemas anaeróbicos).

(d) Parámetros biológicos, en los que se mencionan las especies aisladas en los medios estudiados, además de los recuentos directos a lo largo de la columna de agua y del ciclo anual. También se presentan los resultados de la biomasa bacteriana y la concentración de proteína y ATP de las muestras de agua. Por último, se señalan los niveles de actividad de las poblaciones sulfatorreductoras en la columna de agua.

(e) Concentración de pigmentos y actividad de las bacterias fotosintéticas. En este apartado se presentan todos los resultados de las variaciones absolutas y de contenido específico de los diferentes pigmentos para cada una de las especies dominantes y a lo largo de un ciclo anual en las masas de agua estudiadas en esta Memoria. En este apartado se detallan los datos globales de la dinámica comparada de las distintas poblaciones en los diferentes ambientes así como los niveles de actividad expresados como producción primaria. Se estudia también la capacidad excretora de estas poblaciones en los ambientes naturales.

En la Discusión se plantea un modelo de funcionamiento limnológico de las masas de agua meromícticas, sistema poco conocido en el caso de Banyoles y Vilà. En todas las masas de agua estudiadas se presenta un modelo de la dinámica de las distintas poblaciones bacterianas que intenta racionalizar la incidencia



de los diferentes parámetros fisicoquímicos sobre el hábitat de estas especies, así como las interacciones que desarrollan entre sí a causa de su similar fisiología. También se discute la importancia real de tales poblaciones en los ecosistemas anaeróbicos acuáticos. A continuación, se indican las Conclusiones más importantes derivadas del presente trabajo.

Por último, en el apartado Bibliografía se señalan las referencias citadas a lo largo de la Memoria; el título de las revistas ha sido abreviado, por lo general, siguiendo las normas del Biological Abstracts, indicándose el título completo de los artículos por ser más útil en caso de posteriores consultas.

Para finalizar, quisiera expresar mi profundo agradecimiento al Director de esta Tesis, Dr. Ricard Guerrero, por su apoyo y ayuda constante tanto en los trabajos de campo como en el laboratorio, por sus críticas y sugerencias estimulantes, y sin cuya colaboración científica no hubiera sido posible efectuar el presente trabajo; asimismo deseo agradecerle su probada amistad en todos los momentos buenos y difíciles derivados de todo trabajo de investigación.

Mi sincero reconocimiento a todos los compañeros del grupo de trabajo del Departamento de Microbiología, Emilio Montesinos, Isabel Esteve, Josep Ylla, Josep Turet y Dolors Xairó, ya que este trabajo sólo tiene sentido dentro de la línea de investigación compartida por los componentes del grupo. También deseo agradecer la colaboración del resto de componentes del Departamento de Microbiología, con los que de una manera u otra he convivido durante estos años.

Estoy sinceramente agradecido al Prof. Heidulf E. Müller,

del Instituto Geográfico de la Universidad de Kiel, por su asistencia técnica en la realización de los perfiles de ecosondación del lago de Banyoles y Vilá. Por último mi profundo agradecimiento a todas las personas que han hecho posible directa o indirectamente la realización del presente trabajo, en especial a la Prof. Maria Rosa Miracle por su asesoramiento en problemas limnológicos, al Prof. Josep Trilla y a Miquel Sanz, del Departamento de Geodinámica Externa e Hidrogeología de la Universidad Autónoma de Barcelona por su ayuda en cuestiones geológicas de la zona y a Carmen Chica por su eficacia, paciencia y comprensión en la realización escrita de las distintas fases de esta Memoria.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Zona de estudio

La zona lacustre objeto del presente estudio (figura 2.1) se encuentra situada entre las comarcas del Gironés y la Garrotxa, próxima a la localidad de Banyoles (Girona). Está constituida por el lago de Banyoles, una serie de lagunas cercanas que drenan en el lago principal y posteriormente en la cuenca del río Ter, a través de su afluente el Terri. El otro conjunto lacustre es el de Sant Miquel de Campmajor, situado a unos 8 km al oeste de Banyoles, está formado por una serie de lagunas pequeñas que drenan en la cuenca del Fluvià a través de sus afluentes Tort y Sert. A esta última cuenca también drenan las aguas surgentes del Clot d'Espolla, cercano al lago de Banyoles. Ambos grupos lagunares se encuentran dentro de un semicírculo de 8 km con centro en la localidad de Banyoles (figura 2.1).

Las lagunas circundantes del lago de Banyoles no distan del lago principal más de 500 m encontrándose en el norte la laguna de Ordís, al oeste la laguna de Sisó y la más reciente de Silet y al sur las lagunas de Vilà, Cendra y Montalt.

Las lagunas del valle de Sant Miquel de Campmajor están separadas de las anteriores por la sierra de Sant Patllarí (654 m). Las lagunas estudiadas intensivamente son la de Coromines y Negre 1. Otras lagunas presentes son la de Guardia, Planaferrana, Camós, Tres Creus y Negre 2. Todas ellas contienen aguas permanentes, aunque de nivel variable. Existen además en este valle una serie de socavones y hundimientos sin agua y de diferente profundidad (Pallí & Trilla, en prensa).

Los materiales sobre los que descansa el lago de Banyoles

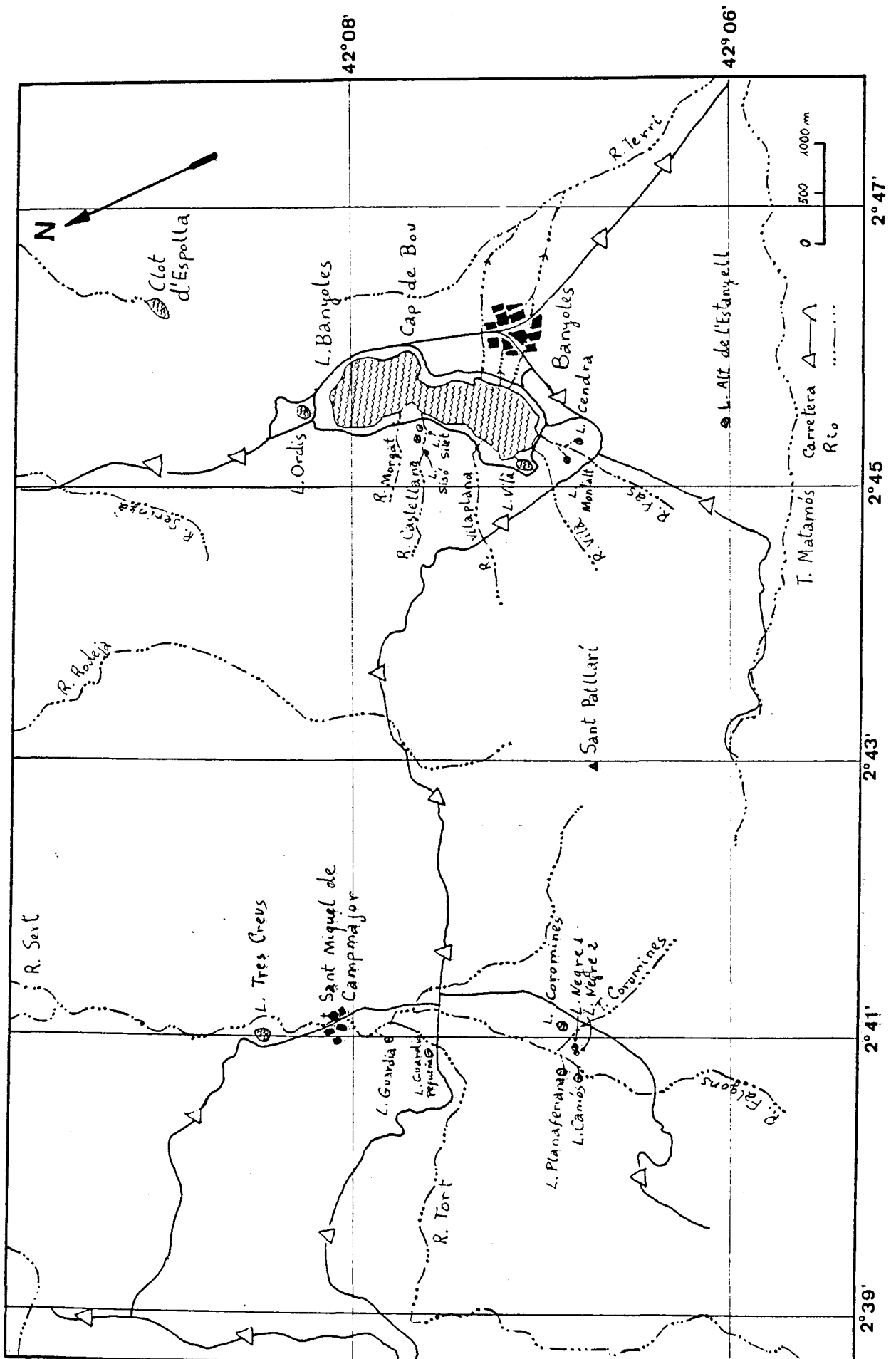


Figura 2.1 Situación de las lagunas estudiadas en relación con las cuencas hidrográficas (Tort y Terri) y las coordenadas geográficas.

son margas eocénicas azules (xalió, en el país) situadas por encima de una potente serie de yesos y anhidritas con intercalaciones de margas. Los yesos que afloran en superficie cerca del lago, levantados por influencia tectónica, tienen una potencia de 180 m (Vidal Pardal 1954). Por debajo yacen materiales calcáreos. Geológicamente la zona se sitúa en el Sistema Transversal Catalán, litológicamente formado por materiales eocénicos. La historia geológica del cuaternario empieza durante el Mioceno Superior-Plioceno, cuando se hundió la depresión del Empordà, con la aparición de la falla de Albanyà, que la separa de la Garrotxa. Algunos autores (Solé Sabarís 1958) han concedido mucha importancia a la falla de Banyoles (prolongación de la anterior) para explicar geológicamente la cuenca lacustre de Banyoles.

La antigua cuenca lacustre de Banyoles-Besalú se formó al final del Plioceno con alimentación subterránea y lateral (fluvial). Los primeros sedimentos lacustres (travertinos) son del Pleistoceno inferior (entre las glaciaciones Gunz-Mindel). Al final del Pleistoceno inferior se separaron ambas cuencas por levantamiento de la de Banyoles.

Durante el Pleistoceno medio (Mindel-Riss) se formó el travertino de la terraza de Les Estunes (por encima del nivel del lago). Entre el Pleistoceno superior-Holoceno (Riss-Würm) se depositó el travertino del Pla de la Mata. Por último, ya durante el Holoceno se deposita el travertino del Pla de Santa Maria. Esta última terraza, por su fauna y flora, se formó después de la última glaciación que afectó a esta zona, la del Würm, ocupando, al parecer, una mayor superficie (21 km<sup>2</sup> respecto a 1,1 km<sup>2</sup> actuales del lago). El lago pudo reaparecer o formarse de nuevo después del periodo hipsitérmico-xerotérmico que afectó a esta

zona (alrededor de 7000 años a C.).

El lago y todas las lagunas de la zona se han formado por hundimiento de los materiales de base debido a la disolución de las capas de yeso y anhidritas. Como hemos citado anteriormente, la presencia de la falla de Albanyà (Solé Sabarís 1958), situada al este del lago, ha sido un factor muy importante en la posterior configuración de la cuenca lacustre, ya que al actuar de pantalla impermeable a la circulación de las aguas subterráneas por las capas cársticas calcáreas, obliga a éstas a ascender a presión hacia la superficie, provocando en último término una intensa disolución del yeso y, por lo tanto, los hundimientos que dan al lago las características de un poljé.

La aparición de hundimientos y socavones está hoy en día en plena actividad. San Miguel y Marcet (1926), señalan que el 27 de octubre de 1904 se hundió el fondo del lago provocando temblores en el agua perceptibles en la superficie. El último hundimiento detectado en la zona de Banyoles se presentó en noviembre de 1978, en este caso cerca de la margen oeste del lago (a unos 100 m de distancia), ocasionando como consecuencia una nueva laguna o "estanyol" al que hemos llamado tentativamente Nou o Silet, por encontrarse cercano a la masía de este nombre; en la presente Memoria se utiliza esta última denominación. Este hecho accidental ha permitido seguir su evolución desde su aparición.

Las lagunas del valle de Sant Miquel de Campmajor tienen un origen muy parecido al del sistema cárstico de Banyoles. Se han formado por hundimientos producidos por la disolución de los yesos debido a la circulación de agua subterránea a presión (Pallí & Trilla, en prensa). Este proceso también es, en este valle,

activo en la actualidad, con frecuente aparición de socavones.

Hutchinson (1957) cita algunos ejemplos de otros sistemas lacustres que podemos comparar con el de Banyoles, como tres situados en el departamento de Var (Francia), lagos de Besse, Grand y Petit Lucien, y el de Mansfelder See en Sajonia (Alemania Oriental).

## 2.2 Parámetros morfométricos de las masas de agua estudiadas

Los parámetros morfométricos condicionan en último término el comportamiento térmico e hidráulico de los lagos. En la tabla 2.1 se detallan los símbolos y significado de las características morfométricas definidas según Hutchinson (1957). Los distintos cálculos se efectuaron a partir del levantamiento del mapa batimétrico. Una vez representado dicho mapa, se llevaba a cabo el cálculo de los diferentes parámetros morfométricos utilizando, cuando era necesario, la integración planimétrica de las distintas superficies de nivel mediante un planímetro calibrado tipo HAFF 315.

En las masas de agua mayores (lago de Banyoles y Vilà), se utilizó el método de ecosondación con un aparato Echograph LAZ-17 CAT, de 30 kHz (E.L.A.C.) con el que se obtenían los ecogramas (Müller 1977). A partir de estos ecogramas se dibujaban las isopletras.

En las lagunas menores se utilizó un método más sencillo, fijando cables cruzados en las orillas en puntos opuestos. A continuación se tomaban las profundidades a intervalos regulares mediante un peso. La forma de las lagunas se obtenía mediante fotografías aéreas de la zona.

Tabla 2.1 Símbolos y definiciones de los parámetros morfométricos de una masa de agua según Hutchinson (1957).

<u>Símbolo</u>	<u>Significado y/o cálculo</u>
A	Área del lago (determinada por planimetría).
V	Volumen, calculado según: $V = \int_{z=0}^{z=z_m} A_z dz$
$z_m$	Profundidad máxima.
l	Longitud, distancia entre los dos puntos más alejados de la orilla.
b	Anchura, definida como la longitud de una línea de orilla a orilla y perpendicular a la longitud.
$\bar{z}$	Profundidad media, se calcula dividiendo el volumen por el área del lago.
L	Perímetro de la línea de costa.
$D_L$	Desarrollo de la línea de costa, definido como $D_L = \frac{L}{2\sqrt{\pi A}}$
$z_r$	Profundidad relativa: $z_r = \frac{50 z_m \sqrt{\pi}}{\sqrt{A}}$
$z_g$	Profundidad del centro de gravedad $z_g = \frac{1}{V} \int_0^{z_m} z A_z dz$
$D_V$	Desarrollo del volumen $D_V = 3\bar{z}/z_m$ .
$z_c$	Profundidad de la quemoclina.
$\tan \xi$	$\frac{(1/2L_0 + L_1 + L_2 \dots L_{n-2} + 1/2L_{n-1}) z_n}{n A}$



### 2.3 Métodos de muestreo

El periodo de tiempo estudiado comprende desde 1977 hasta 1979. Las muestras de agua se tomaron aproximadamente a la misma hora, con una periodicidad quincenal, según un perfil vertical situado siempre sobre el punto de máxima profundidad. A partir de la distribución vertical de la temperatura y de la turbiedad, se situaba la posición de la termoclina y en su caso de la quemoclina (detectable por una inversión térmica de 1-2°C en la cubeta III del lago de Banyoles). A continuación se programaba un muestreo estratificado que tuviera en cuenta estas zonas en cada masa de agua.

La toma de muestras se efectuó utilizando varios tipos de botellas limnológicas: (1) botella de Ruttner transparente (Hydro-Ex, Uppsala) de 1,8 l de capacidad, con termómetro incorporado; (2) Botella de van Dorn opaca de 8 l de capacidad; y (3) botella de Fjarli metálica (Wildlife, Michigan), de 1,2 l de capacidad. Las distintas botellas se empleaban en función del volumen de agua requerido para los análisis posteriores y también en función de la facilidad de su manejo en las lagunas más pequeñas.

De los distintos niveles seleccionados se llenaban frascos de 1 l de capacidad para los diferentes análisis fisicoquímicos y biológicos, ATP (trifosfato de adenosina), proteínas totales y pigmentos fotosintéticos. Para el análisis del sulfhídrico se fijaba, en forma de ZnS, en el mismo momento del muestreo, añadiendo 1 ml de acetato de zinc 1,0 M en medio básico (+ 1 ml de NaOH 1,0 N) y evitando la introducción de burbujas de aire que oxidaría parte del sulfhídrico presente. Las mismas precauciones se tomaban para las muestras de oxígeno, que se fijaban en el campo

con sulfato manganoso (al 36,5%), seguido de 1 ml de solución alcalina de yoduro potásico (KI al 31,5% y KOH al 53,6% en solución acuosa). Se produce un precipitado marrón que se acumula en el fondo de los frascos, que se almacenan protegidos de la luz (Golterman et al. 1978). Por último, las muestras se transportaban el mismo día al laboratorio donde se conservaban a 4°C hasta el momento de su análisis (alrededor de 24 h después).

El muestreo de los sedimentos se llevaba a cabo de dos formas diferentes, en función del grado de compactación del mismo. En el caso de margas la suspensión o lodo se tomaba con las mismas botellas limnológicas utilizadas para las muestras de agua. Si el sedimento era compacto se utilizaba una sonda de gravedad (construida por J. Ylla, de nuestro Departamento) de la cual se sacaban cilindros de sedimento de 0,2-0,5 m de longitud.

#### 2.4 Filtración

Para obviar la interferencia de animales planctónicos en los análisis de algunos parámetros bioquímicos (proteínas, pigmentos y ATP), se prefiltraban las muestras en un filtro de Nylon de 55  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro para retener el zooplancton. A continuación se filtraban las muestras de agua para los análisis de los parámetros bioquímicos. Por una parte se sedimentaban sobre filtros de acetato de celulosa (Sartorius tipo SM), de 22 mm de diámetro total y 0,45  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro. El volumen filtrado oscilaba entre 150 y 300 ml para la determinación del ATP (véase el apartado 2.8.2). Para el análisis de pigmentos y proteínas se utilizaba el mismo tipo de filtro (Sartorius SM, 0,45  $\mu\text{m}$  de poro) pero con un tratamiento previo. Antes de iniciar la filtración de la muestra de agua (entre 0,25 y 1 litro) se apli-

caba sobre el filtro un recubrimiento de  $MgCO_3$  (1 ml al 10%) de aproximadamente 1 mm de espesor (Humphrey & Wootton 1966) y después se filtraba el agua. La capa de  $MgCO_3$  aumenta la superficie efectiva de la filtración y retarda la colmatación, permitiendo pasar un mayor volumen de muestra. Esta capa de  $MgCO_3$  con las células sedimentadas se recoge con una espátula (Montesinos 1978) arrastrándose completamente el contenido de la misma. Se han efectuado controles para detectar las posibles pérdidas de células estudiando la cantidad de pigmentos que quedaban en el filtro una vez retirada la capa de  $MgCO_3$ . Los resultados fueron válidos ya que no se detectaron pigmentos. Con este sistema, además de permitir un cierto reciclado de los filtros de membrana, se evitan posibles interferencias en las lecturas al espectrofotómetro por disolución de los filtros en acetona.

## 2.5 Características físicas del agua

### 2.5.1 Determinación de la temperatura

La temperatura se midió a lo largo del perfil vertical, normalmente a intervalos de 1 m o menos, mediante un termistor (resistores NTC, Miniwatt) unido mediante cable coaxial a un aparato de lectura (multímetro) Alpha Meter con salida digital (Advanced Instruments Co.) situado en superficie. La resistencia que ofrecen este tipo de resistores (NTC, "negative temperature coefficients") es inversamente proporcional a la temperatura. La calibración se efectuó construyendo una recta con los valores del termistor medidos simultáneamente con un termómetro de décimas (máxima precisión del método).

### 2.5.2 Determinación del pH

La medición del pH se ha llevado a cabo electrométicamente mediante un pH-metro portátil tipo 400 (Chemtrix Co., Hillsboro) con electrodo de vidrio y corrección para la temperatura.

### 2.5.3 Determinación del potencial de oxidorreducción

El potencial de oxidorreducción (redox) se midió mediante el mismo modelo de pH-metro descrito pero en la escala de mV, comparando un electrodo de calomelanos (Radiometer, modelo K401) con un electrodo de referencia de platino construido en el laboratorio según ZoBell (1946). Ambos electrodos se sumergían en el agua o sedimento y se anotaba el valor en mV. Simultáneamente se anotaba también el valor del pH.

Para calibrar el sistema se utilizó una solución tampón redox propuesta por ZoBell (1946), compuesta por  $K_3Fe(CN)_6$  0,003 M,  $K_4Fe(CN)_6$  0,003 M en KCl 0,1 M, que tiene un potencial redox estándar de + 430 mV a 25°C.

### 2.5.4 Determinación de la conductividad

La conductividad es una medida de la capacidad de un conductor (en este caso el agua) de dejar pasar una corriente eléctrica. En el caso de las soluciones acuosas, la conductividad está en relación con la concentración de iones presentes y con la temperatura. No da información acerca del tipo de sustancias que están en disolución, pero un incremento en su concentración provoca un incremento en la misma.

La conductividad se midió "in situ" mediante un conductímetro Chemtrix modelo 700 (Chemtrix Co., Hillsboro). Este aparato

mide la conductancia eléctrica entre dos electrodos de  $1 \text{ cm}^2$  de superficie activa por electrodo separados por 1 cm de distancia. Ambos se encuentran incluidos en el sensor que se sumerge en la muestra problema. El aparato normaliza automáticamente las medidas para la temperatura a  $20^\circ\text{C}$  mediante un termistor incorporado. La conductividad se ha expresado en  $\text{mS/cm}$  (equivalente a  $\text{mmho/cm}$ ).

#### 2.5.5 Determinación de la densidad de las muestras de agua

La densidad de las diferentes capas de la columna de agua se midió utilizando el método de la pesada diferencial después de evaporar a  $110^\circ$  250 ml de muestra (sólidos disueltos). Este volumen de agua se filtraba previamente a través de un filtro de membrana de acetato de celulosa de  $0,45 \mu\text{m}$  de poro para eliminar las partículas grandes en suspensión y determinar la densidad debida a las sustancias disueltas. Este método se aplicó tan sólo en los casos de masas de agua meromícticas (cubeta III de Banyoles y Vilà).

La medición de la densidad en el caso de las cubetas con margas en suspensión o lodos se llevó a cabo pesando un volumen exacto (normalmente 100 ml) y calculando a partir de este valor la densidad del conjunto.

#### 2.5.6 Determinación de la transparencia de la columna de agua.

##### Disco de Secchi.

Para determinar la transparencia del agua se utilizó un disco de Secchi (circular, de 30 cm de diámetro, de color blanco). Se anotaba la profundidad media entre la desaparición del disco al descenderlo y su reaparición al ascender de nuevo. La lectura se efectuaba por el lado sombreado de la barca.

El disco de Secchi es tan sólo una medida auxiliar para caracterizar de forma sencilla las condiciones ópticas de las masas de agua. Sus resultados son aproximados pero válidos a título de comparación.

Existe una relación empírica entre el valor del disco de Secchi y el coeficiente de extinción del agua (Vollenweider 1974):

$$\eta \cdot s = (\ln I_1 - \ln I_2) = (\ln 1 - \ln 0,15) = 2,2$$

siendo  $\eta$ , el coeficiente de extinción de la luz en la columna de agua comprendida entre las profundidades 1 y 2;  $I_1$  e  $I_2$ , el porcentaje de luz que llega a estas profundidades y  $s$  la penetración del disco de Secchi en metros. Se considera que el nivel donde desaparece el disco de Secchi corresponde aproximadamente al 15% de la luz en superficie.

#### 2.5.7 Penetración de la luz

La atenuación de la luz se midió a lo largo del perfil vertical descendiendo una fotocélula de selenio (tipo B, Megatron) a intervalos regulares, anotándose las lecturas en  $\mu A$  con un medidor en superficie (multímetro Alpha Meter). Las medidas no se iniciaban en la misma superficie sino que se partía de 10-20 cm de profundidad y después, al disponer los datos en papel semilogarítmico se calculaba por extrapolación el valor en superficie. De esta forma se evita el "efecto de superficie" (Vollenweider 1974), que altera las medidas reales de la intensidad de la luz incidente.

El coeficiente de extinción vertical se calculaba según la fórmula:

$$\eta = \frac{1}{z_2 - z_1} (\ln I_1 - \ln I_2)$$

siendo  $I_1$  e  $I_2$  las intensidades medidas en las profundidades  $z_1$  y  $z_2$  respectivamente.

Por otra parte, se representaba la penetración de la luz para cada nivel de la columna de agua como porcentaje de la luz incidente en superficie para efectuar un estudio más detallado de su extinción (Thompson et al. 1979, Roemer & Hoagland 1979).

#### 2.5.8 Determinación de la turbiedad en la columna de agua

El aparato de medida (turbidímetro) utilizado fue un modelo construido por E. Montesinos en nuestro Departamento, siguiendo modelos comerciales (Philip Schenk, Austria), que produce un haz de luz constante colimada sobre un fotorresistor de sulfuro de cadmio (RPY-27) situada 25 cm de distancia de la fuente de luz. Los resultados se expresan como porcentaje del valor obtenido con el aparato en el aire (máxima transmisión).

La única modificación sobre los modelos habituales consiste en disponer el emisor y sensor en posición vertical en lugar de horizontal. Este cambio está justificado para el estudio de poblaciones bacterianas fotosintéticas ya que éstas se disponen con una fuerte estratificación laminar y con el turbidímetro vertical se evitan oscilaciones del ángulo de medición sobre las capas (Brunskill & Ludlam 1969, Diehl & Haardt 1980).

### 2.6 Características químicas del agua

#### 2.6.1 Determinación de la concentración de sulfatos

Se han utilizado métodos volumétricos directos por macrotitulación (Fritz & Freeland 1955) y por microtitulación (Fritz

& Yamamura 1955). Ambos métodos consisten en una valoración directa con una disolución alcohólica de cloruro o perclorato de bario utilizando torina (arsenofenil-azo-2-hidroxi-naftalin disulfonato, sal disódica; Merck) como indicador. Deben eliminarse previamente los cationes pasando la muestra por una columna de resina de intercambio iónico preparada con HCl 3 N.

En el método de macrotitulación se utiliza cloruro de bario 0,1 M disuelto en 200 ml de agua destilada y 800 ml de etanol con un pH entre 3-3,5 y torina al 0,0025%. El intervalo de medida de este método oscila entre 5 y 52 mmol/l.

El método de microtitulación se emplea para concentraciones de sulfatos bajas, inferiores a 2 mmol/l, y la única diferencia con el anterior es el empleo de perclorato bórico 0,005 M y el indicador torina diluido al 0,002%. El intervalo de medida de este método oscila entre 0,1 y 5 mmol/l.

El sulfato de bario formado en medio no acuoso (alcohólico) precipita en forma gelatinosa y no en forma de cristales como en la disolución acuosa, formándose un complejo de color rosado con el indicador torina.

#### 2.6.2 Determinación de la concentración de nitratos y nitritos

Estos aniones se han analizado siguiendo el método absorciométrico de Morris y Riley descrito en Strickland & Parsons (1968). El nitrato se reduce cuantitativamente a nitrito al pasar la muestra por una columna de limaduras de cadmio recubiertas por cobre metálico en disolución salina (pH 8,0). El nitrito se determina absorciométricamente por el método de Bendscheider y Robinson descrito en Strickland & Parsons (1968). Al acidificar una disolución con nitrito, éste pasa a ácido nitroso y al añadir una amina aromá-



tica (sulfanilamida) se forma una sal diazólica que reacciona cuantitativamente con una segunda amina aromática, la N-1-naftilendiamina.2HCl. Este complejo determina la aparición de un color rosado con una absorbancia máxima a 543 nm. Tanto en éste como en todos los métodos absorciométricos descritos a continuación se utilizaron dos espectrofotómetros, un Beckman DU-2 y un PYE UNICAM 1700 según la longitud de onda requerida. El intervalo de medida en ambos métodos está entre 0,07 y 35  $\mu\text{mol/l}$ .

### 2.6.3 Determinación de la concentración de amonio

El método de análisis empleado es el descrito por Solórzano (1969). El ión amonio reacciona con fenol e hipoclorito en condiciones alcalinas formándose indofenol (de color azul), con una absorbancia máxima a 640 nm. La intensidad del color es proporcional a la concentración del amonio en la muestra. Se utiliza el nitroprusiato sódico como catalizador para facilitar el desarrollo del color a temperatura ambiente. El sulfhídrico interfiere y debe eliminarse burbujeando previamente nitrógeno libre de amoníaco hasta que desaparece el olor. El intervalo de medida efectivo para este método se sitúa entre 6 y 1215  $\mu\text{mol/l}$ .

### 2.6.4 Determinación de la concentración de fosfatos solubles

El fosfato, en condiciones ácidas, reacciona con el molibdato amónico formando complejos que se convierten mediante adición de agentes reductores, como el ácido ascórbico, en compuestos azules de composición incierta. La absorbancia máxima se presenta a 885 nm en el espectrofotómetro. El método utilizado es el propuesto por Murphy y Riley descrito en Strickland & Parsons (1968). El intervalo de medida se sitúa entre 0,02 y 5  $\mu\text{mol/l}$ .

#### 2.6.5 Determinación de la concentración de sulfhídrico

Una vez fijados el sulfhídrico disuelto en las muestras de agua en forma de ZnS (véase el apartado 2.3), se lleva a cabo el análisis en el laboratorio, según el método de Strickland & Parsons (1968). En condiciones ácidas el sulfhídrico reacciona con la p-fenilendiamina.2 HCl y con el cloruro férrico, formándose un complejo de color azul intenso (violeta de Lauth) que tiene una absorción máxima a 600 nm. El intervalo de medida de este método se sitúa entre 1 y 200 mg/l, aunque se pueden efectuar diluciones cuantitativas previas posteriores a la formación del violeta de Lauth.

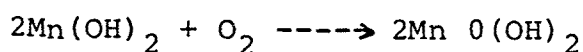
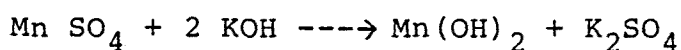
#### 2.6.6 Determinación de la concentración de oxígeno disuelto

La concentración de oxígeno disuelto en el agua se determinaba o bien en el laboratorio, según el método de Winkler (Golterman et al. 1978) o bien "in situ" mediante un sistema polarográfico (Chemtrix Co., Hillsboro tipo 300) introduciendo el sensor directamente en el agua o en la botella de muestreo.

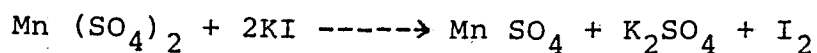
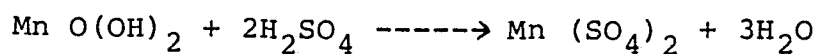
El método polarográfico se basa en separar, con una membrana permeable al oxígeno, los electrodos del medio exterior. Al aplicar un voltaje polarizante a través del sensor, el oxígeno que ha pasado a través de la membrana reacciona con el cátodo donde se consume y se produce una corriente eléctrica proporcional a la cantidad de oxígeno disuelta. Este pasa a través de la membrana a una velocidad proporcional a la diferencia de presión en ambos lados. Como el oxígeno se consume rápidamente en el cátodo, puede considerarse que su presión dentro de la membrana es cero. Por lo tanto, la fuerza que provoca que el oxígeno difunda a través de la membrana es proporcional a la presión absoluta

(presión parcial) del mismo fuera de la membrana (teflón tipo 0,001 FEP con electrolito de KCl saturado).

Cuando la concentración de oxígeno era muy baja o bien se sospechaba de posibles interferencias en el método polarográfico causadas por la presencia de sulfhídrico, se tomaban muestras de agua en botellas de DBO (demanda bioquímica de oxígeno) y se fijaban "in situ" según el método descrito anteriormente (apartado 2.3. El método de análisis seguido con estas muestras (método de Winckler) consiste en la reacción del sulfato manganoso con el hidróxido potásico formándose hidróxido manganoso que, en presencia de oxígeno, pasa cuantitativamente a óxido mangánico básico de color marrón:



Por último, al añadir ácido sulfúrico en el momento del análisis en el laboratorio, se disuelve el óxido marrón formándose sulfato mangánico que a su vez reacciona inmediatamente con el KI presente, liberándose yodo:



Por consiguiente, el oxígeno oxida en  $\text{Mn}^{2+}$  a  $\text{Mn}^{4+}$  y éste oxida el  $\text{I}^-$  a  $\text{I}_2$ , que se valora en último término con tiosulfato. Este método tiene una precisión de 0,2 mg/l y un intervalo de medida entre 0 y 20 mg/l.

#### 2.6.7 Determinación de la alcalinidad (reserva alcalina)

La alcalinidad o reserva alcalina se debe generalmente a los bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos del agua. El método utili-

zado para su medida el el volumétrico descrito por Golterman et al. (1978), mediante titulación con  $H_2SO_4$  0,02 N e indicador mixto (rojo de metilo y verde de bromocresol). El método tiene un intervalo de medida entre 0,01 y 8 mmol/l.

Las posibles interferencias debidas al sulfhídrico se eliminaban burbujeando gas nitrógeno hasta que desaparecía su olor (Cohen et al. 1977a).

#### 2.6.8 Determinación de la concentración de cationes

Los cationes analizados en el agua han sido el Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu y Sr. Las muestras para el análisis del hierro se prepararon de distinta forma que para el resto ya que el parámetro medido es el hierro coloidal. Se filtraron aproximadamente alrededor de 50 y 500 ml en filtros de membrana de 0,45  $\mu m$  de poro. Una vez sumergido en 10 ml de HCl 0,5 N se hierven en un baño de agua durante 10-15 min. Las muestras del resto de cationes, a excepción del Sr, se acidifican con  $HNO_3$  al 0,15% añadiéndose 0,5 ml por 100 ml de muestra.

Las muestras para el análisis del Sr se preparan añadiendo 1500 ppm de K para estabilizar la llama de óxido nitroso y acetileno y para aumentar la sensibilidad del análisis.

Fotometría de llama.- La disolución acuosa con el metal a analizar se aspiraba en una llama de aire-acetileno para la mayoría de los cationes (a excepción del Sr, que es de óxido nitroso-acetileno). A elevada temperatura se excitan los átomos del metal emitiendo un espectro de bandas. Para el Na y K, que son fácilmente excitables, se utiliza la llama como punto de emisión, y la luz resultante se pasa por una rendija de filtrado hasta el fototubo. La luz emitida es proporcional a la concentración

del elemento emisor. El aparato utilizado fue un fotómetro de llama Zeiss modelo PF-5 con una sensibilidad de 0,007  $\mu\text{g/ml}$  para el sodio y 0,01  $\mu\text{g/ml}$  para el potasio.

Absorción atómica.- En el análisis del Mg, Mn, Fe, Cu, Zn, Ca y Sr, elementos que absorben fácilmente energía radiante, se utilizó un espectro de absorción atómica PYE UNICAM SP 1900 de doble haz. Los niveles de sensibilidad son, para el magnesio, de 0,003  $\mu\text{g/ml}$ ; para el hierro, 0,05  $\mu\text{g/ml}$ ; para el manganeso, 0,021  $\mu\text{g/ml}$ ; para el zinc, 0,009  $\mu\text{g/ml}$ ; para el calcio, 0,05  $\mu\text{g/ml}$  y para el estroncio, 0,34  $\mu\text{g/ml}$ . Todos estos análisis se realizaron en el servicio de espectroscopía de la Universidad de Barcelona.

## 2.7 Parámetros biológicos

### 2.7.1 Determinación del número de microorganismos por recuento directo

La técnica empleada consiste en sedimentar por filtración un volumen de muestra variable (entre 1 y 25 ml) sobre un filtro de membrana de acetato de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro y 22 mm de diámetro. Después se sigue un proceso de tinción diferencial sobre el filtro consistente en dejarlo flotar sucesivamente sobre tres diluciones (Lumpkins & Arveson 1968): La primera (fijación) está compuesta por ácido nítrico al 10%; se trata durante 2 min. Después se deja secar completamente sobre papel de filtro y se coloca de nuevo sobre la segunda disolución de fucsina ácida (pH 1,0) ajustada con HCl durante 3 min. Por último y después de un nuevo secado completo, se deposita, siempre por flotación, sobre una disolución de azul de metileno al 0,02% (pH 6,5) durante 2 min. Los microorganismos se observan al microscopio teñidos en general

de color rojizo rosado sobre un fondo de color azul pálido. La bacteria fotosintética Chlorobium phaeobacteroides, a diferencia del resto de bacterias, se tiñe de un color verde pálido. La flotación de los filtros facilita una difusión lenta y uniforme de todos los colorantes y reactivos aplicados. Una vez secados los filtros, se cortaba un sector de unos  $15 \text{ mm}^2$  que se sumergían en aceite de inmersión. Con este tratamiento, que los tornaba translúcidos, podían ser observados en un microscopio óptico con luz transmitida. Una de las ventajas de esta técnica es la posibilidad de una larga conservación de los filtros secos ya que, por una parte, no se altera la tinción y, por otra, sólo se toma una pequeña porción en cada recuento, con lo que pueden observarse en diferentes ocasiones. Por último, se colocaba aceite de inmersión sobre el cubreobjetos y se observaba al microscopio con un objetivo de 100 aumentos. Se procedía al recuento del número de bacterias con un ocular cuadrículado y calibrado, contándose un número por campo estadísticamente significativo (50 o más).

El número de organismos por mililitro ( $x$ ) se estimaba mediante la siguiente fórmula:

$$x = \frac{SN}{CV}$$

Siendo  $\underline{S}$  el área de la superficie de filtración en  $\mu\text{m}^2$ ;  $\underline{c}$  el área de la cuadrícula contada a  $1000x$ ,  $\underline{N}$  la media estadística del número de células por cuadrícula y  $\underline{v}$  el volumen de agua filtrada en ml.

### 2.7.2 Estima de la biomasa por recuento directo

La biomasa se infería a partir del volumen de los diferentes tipos morfológicos de microorganismos contados (Sorokin & Kadota

1972), asumiendo un peso específico de  $1,07 \text{ g/cm}^3$  para las bacterias (Doetsch & Cook 1973). Para el estudio más preciso de la forma, tamaño y abundancia se utilizaron micrografías al microscopio electrónico efectuadas por I. Esteve de nuestro Departamento, con un tratamiento estadístico de los datos (Esteve et al. en prensa).

El volumen total celular se calculaba a partir de la siguiente fórmula:

$$V = \pi r^2 (l-a) + 4/3 \pi a^3$$

siendo  $l$  el diámetro mayor (longitud) y  $a$  el diámetro menor (anchura).

La biomasa se calculaba a su vez a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{mg/l peso fresco} = 1,07 \text{ g/cm}^3 \times V (\mu\text{m}^3) \times N (\text{cél/ml}) \times 10^{-6}$$

siendo  $V$  el volumen celular y  $N$  el número de células por ml.

### 2.7.3 Identificación de microorganismos

La identificación de los microorganismos presentes en las masas de agua estudiadas se llevó a cabo determinando las características morfológicas y/o fisiológicas de los diversos grupos.

Las bacterias fotosintéticas fueron aisladas en su mayor parte en cultivo puro o de enriquecimiento mediante inoculación en tubos anaerobios con medio semisólido de Pfennig (1965), (véase el apartado 2.7.4) y subcultivos sucesivos hasta obtener cultivos puros en sólido y líquido.

La concentración de sulfhídrico del medio era distinta en función del grupo de bacterias fotosintéticas (40-60 mg/l para Chromatium minus y 80 - 160 mg/l, para las especies de

Chlorobium). Las especies de Rhodospirillaceae se cultivaban en ausencia de sulfhídrico y con una fuente orgánica como el acetato sódico o extracto de levadura (véase el apartado 2.7.4). Los cultivos se incubaban a 30°C a temperatura constante en un incubador Refriterm III (Struers) con una fuente de luz blanca, traslúcida y uniforme (fluorescentes Osram 15 w, L8) y con los cultivos situados a 30 cm de distancia (1000 lux).

Las bacterias sulfatorreductoras anaerobias se enumeraron en medio líquido de Postgate (1963) por el método del número más probable, utilizando como indicador de la presencia de sulfatoredutores la formación de FeS de color negro procedente de la reacción de una sal ferrosa y el sulfhídrico desprendido por las bacterias estudiadas. Posteriormente se aislaron en cultivo puro en sólido y líquido. La identificación se llevó a cabo mediante el espectro de absorción de sus pigmentos (desulfovirdina y citocromo  $c_3$ ), y por los parámetros morfológicos y metabólicos (tabla 2.2).

#### 2.7.4 Medios de cultivo

A continuación se detalla la composición de los diferentes medios de cultivo empleados en el aislamiento y estudio sistemático de los microorganismos más importantes estudiados en el presente trabajo.

Bacterias fotosintéticas.- Para el cultivo de bacterias fotosintéticas se ha utilizado el medio de Pfennig (1965), descrito también en Lapage & Shelton (1970), cuya composición es la siguiente:



Tabla 2.2 Métodos generales utilizados en el estudio taxonómico de los principales microorganismos identificados en las masas de agua estudiadas.

Método	Chromatiaceae	Chlorobiaceae	Rhodospirillaceae	Sulfatorreductores
-Morfología y dimensiones	+	+	+	+
-Concentración óptima de sulfhídrico en el medio de cultivo	+	+	+	-
-Espectro de absorción	+	+	+	+
-Requerimientos nutritivos	+	+	+	+
-Capacidad reductora de sulfatos	-	-	-	+
-Aislamiento y cultivo	+	+	+	+

## A. Disolución de metales pesados

EDTA	500 mg
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200 mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	3 mg
$\text{H}_3\text{BO}_3$	30 mg
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	25 mg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,5 mg
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2 mg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3 mg
Agua destilada	1 litro

B. Disolución de vitamina B<sub>12</sub>

Al 0,002% p/v en agua destilada

## C. Disolución de sales

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1 g
KCl	1 g
$\text{NH}_4\text{Cl}$	1 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1 g
Disolución de metales pesados (A)	30 ml
Disolución de vitaminas B <sub>12</sub> (B)	3 ml
Agua destilada	70 ml

D. Disolución de  $\text{NaHCO}_3$ 

Disolver 2,5 g en 900 ml de agua destilada

E. Disolución de  $\text{CaCl}_2$ 

Al 0,02% de  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$

F. Disolución de  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 

Al 1,5% en agua destilada

Pauta.- Se esteriliza el  $\text{CaCl}_2$  y el  $\text{Na}_2\text{S}$  en el autoclave durante 15 min. Una vez saturada la disolución de carbono mediante burbu-

jeo de  $\text{CO}_2$  se mezcla con la disolución de sales (dilución C). Se esteriliza la mezcla por filtración. Por cada litro de disolución estéril se añaden asépticamente 500 ml de  $\text{CaCl}_2$ . Una vez ajustado el pH entre 6,7 y 7,2 se añade la cantidad de sulfhídrico apropiada para cada microorganismo. En el caso de Chromatium entre 20-60 mg/l y para Chlorobium entre 80 y 160 mg/l. Si se intenta aislar Rhodospirillaceae es mejor no añadir sulfhídrico y complementar con acetato sódico al 0,2%. Esta concentración de acetato también es conveniente añadirla para las otras bacterias fotosintéticas, ya que aumenta su crecimiento. Antes de inocular el medio se comprueba el potencial redox que debe oscilar entre -50 y -100 mV, y la conductividad, que en este medio alcanza los 3,5 mS/cm, y que sirve para detectar las posibles precipitaciones ocurridas en el momento de su preparación o almacenamiento. El pH puede escogerse entre 6,8 para Chlorobium y 7,2 para Chromatium.

Bacterias sulfatorreductoras.- Para determinar el número de sulfatorreductores y para su aislamiento se ha empleado el medio C de Postgate (1963), cuya composición es la siguiente:

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,5 g
$\text{NH}_4\text{Cl}$	1,0 g
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	4,5 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,06 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,06 g
Lactato sódico	6,0 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,004g
Extracto de levadura	1,0 g
Citrato sódico $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5,0 g
Agua destilada	1 litro
pH	7,5

Se esteriliza al autoclave durante 20 min. Se añaden por último, unas gotas de  $\text{Na}_2\text{S}$  para controlar el potencial redox final que debe quedar alrededor de -100 mV.

## 2.8 Parámetros bioquímicos

### 2.8.1. Determinación de la concentración de proteínas

El método elegido para el análisis de las proteínas consiste en una modificación del método absorciométrico de Lowry et al. (1951) por Hartree (1972). Esta modificación mejora el método de Lowry ya que permite una respuesta lineal en los casos en que el método no lo es. Se basa en la producción cuantitativa de un color azul por la reducción del reactivo fenólico, cuya lectura se efectúa en un espectrofotómetro.

#### Reactivos:

Disolución A.	Tartrato sódico potásico	2 g
	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	100 g
	NaOH 1 N	500 ml
	Enrasar hasta 1 litro	

Disolución B.	Tartrato sódico potásico	2 g
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1 g
	$\text{H}_2\text{O}$ destilada	90 ml
	NaOH 1 N	10 ml

Disolución C.	Reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma)	1 volumen
	$\text{H}_2\text{O}$ destilada	8 volúmenes

Pauta: Las muestras de proteína extraídas durante 15 min por ebullición en NaOH 1 N se diluyen hasta 1 ml de agua destilada y se tratan con 0,9 ml de la disolución A. Después se incuban a

50 °C durante 10 min. Se deja enfriar a temperatura ambiente (20 - 25°C) y se añade 0,1 ml de la disolución B. Por último, se deja 10 min a esta temperatura y se añaden 3 ml de la disolución C.

Los tubos se incuban de nuevo a 50°C durante 10 min y se dejan enfriar a temperatura ambiente.

La absorbancia se lee a 650 nm en cubetas de 1 cm de recorrido óptico. Las disoluciones A y B preparadas según esta modificación tienen la ventaja de que son más estables debido a la elevada alcalinidad (NaOH 1 N), por lo que este método permite una mejor linealidad y una reacción más completa a 50°C.

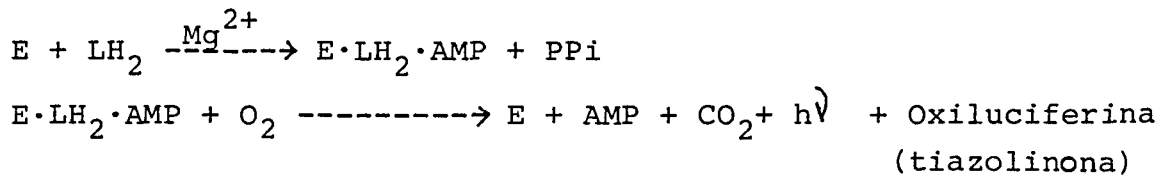
Debido a que muchas muestras de agua analizadas contienen sulfhídrico, para eliminar su interferencia (color amarillo), la muestra se trataba con etanol al 90% en caliente (a 60°C) durante 15-30 min para disolver el azufre formado al oxidarse el sulfhídrico.

La curva patrón se preparaba utilizando albúmina de suero bovino. El método tiene una sensibilidad de hasta 5 µg/ml y un intervalo entre 5 y 400 µg/ml.

#### 2.8.2 Determinación de la concentración de trifosfato de adenosina

La concentración de trifosfato de adenosina (ATP) ha sido recomendada por diversos autores (Holm-Hansen 1969, Hodson et al. 1976) como la mejor evaluación de la biomasa activa bacteriana. Una vez filtrada la muestra (véase el apartado 2.4), se efectúa la extracción del ATP mediante ebullición del filtro en 3 ml de tampón Tris 0,025 M, pH 7,75 durante 5 min. El ATP extraído se cuantifica mediante la reacción de bioluminiscencia del complejo enzimático luciferina-luciferasa que reacciona con el ATP en presencia de  $Mg^{2+}$  y oxígeno dando lugar a un fotón por cada molécula

de ATP consumido, a pH neutro o ligeramente alcalino. La reacción completa se resume en dos pasos:



siendo E la luciferina, ácido carbónico 2(6-hidroxi-2 benzotiazolil)-tiazolina;  $LH_2$  luciferasa reducida, AMP adenosina monofosfato, y  $h\nu$  es la luz producida (562 nm).

Al mezclar los reactivos se produce un destello inicial (figura 2.2) seguido por un largo periodo de caída lenta. Esta respuesta permite cuantificar el ATP mediante dos métodos distintos, uno de ellos consiste en medir el tamaño del destello inicial (proporcional a la cantidad de ATP), y el otro en integrar un área determinada de la curva de emisión (durante 1 minuto) después de los primeros 15 segundos a partir del momento de inyección de la muestra. El detector empleado con este segundo método ha sido un contador de centelleo Nuclear Chicago Unilux II en programa manual, lo que permitía el control de los 30 s iniciales antes de efectuar la lectura. El aparato se colocaba fuera de coincidencia para aumentar el nivel de detección, además de contar en integral con la máxima apertura de voltaje entre 0,5 y 10 V.

Preparación del extracto enzimático.- Se utiliza un extracto enzimático liofilizado de luciferina-luciferasa de luciérnaga (Photinus pyralis, Lampyridae) (Sigma) al que se añaden 12,5 ml de agua destilada, 7,5 ml de tampón Tris-HCl y 5 ml de sulfato magnésico 0,05 M pH 7,75, ya que el magnesio es necesario para la actividad del enzima.

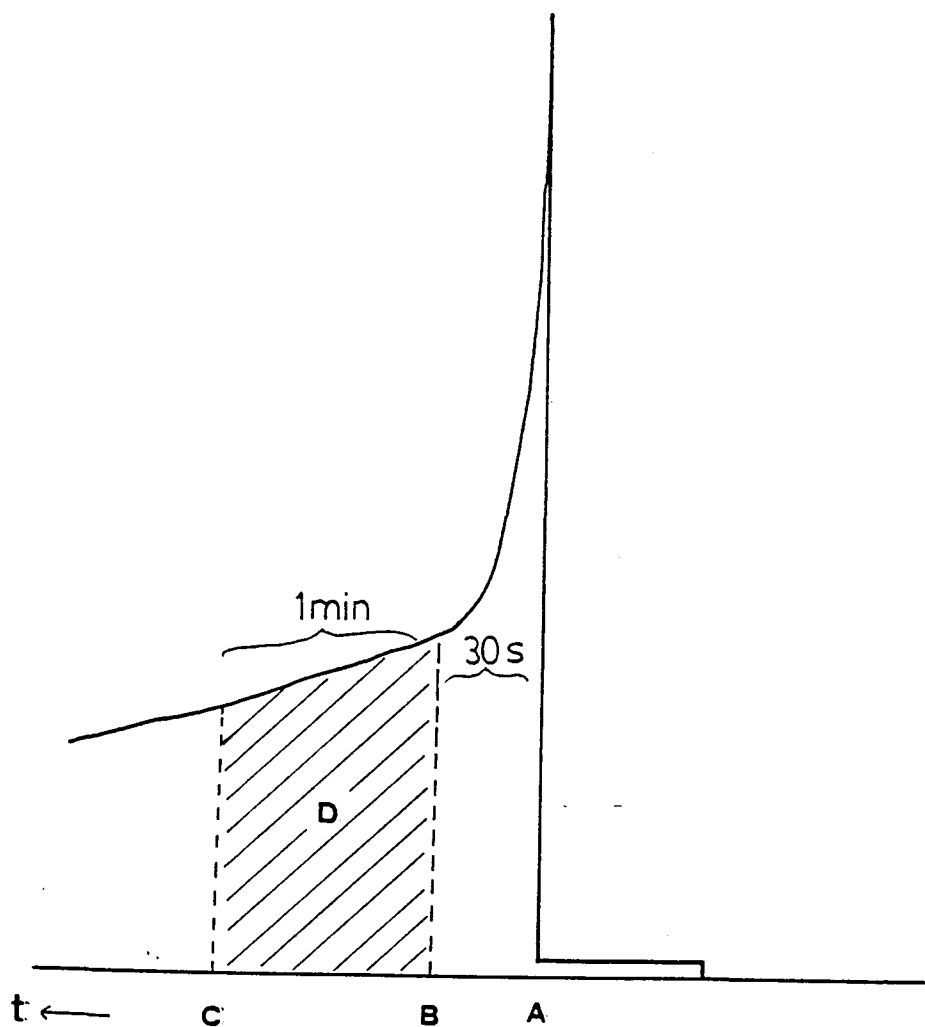


Figura 2.2 Curva de emisión luminosa al inyectar una muestra con trifosfato de adenosina (ATP) a una preparación de luciferina-luciferasa.

- A.- Momento de la inyección de la muestra
- B.- Final del primer periodo de 30 s
- C.- Final del minuto de integración luminosa
- D.- Área integrada por el contador de centelleo

Se incuba la disolución durante 6-7 h (periodo óptimo) a 23-25°C con el fin de eliminar el ATP endógeno y de este modo disminuir la actividad espontánea del enzima y aumentar, por tanto, la sensibilidad del método. Al cabo de este tiempo se centrifuga a 19 000 x g durante 5 min o bien se filtra a través de un filtro Whatman GF/C. Tras el proceso de clarificación y durante su uso el enzima debe mantenerse en un baño de hielo a 4°C.

Medición.-Para efectuar el análisis se mezclan en un vial de centelleo de cristal 1 ml de extracto de la muestra o de estándar, 0,5 ml de Tris-HCl 0,025 M pH 7,75. Los viales se insertan en la cadena del contador. A cada vial se le añaden 0,5 ml de la disolución enzimática mediante una pipeta automática, se agita suavemente y 30 segundos exactos después de la inyección del enzima se cuenta durante exactamente 1 min.

Calibración.- Se preparan disoluciones estándar de sal sódica de ATP (Sigma) que contengan 1 mg/l en Tris-HCl 0,025 M, pH 7,75 y se guarda en viales de 10,0 ml a -20°C.

Cada vez que sea necesario efectuar un patrón se diluyen las disoluciones originales en tampón para abarcar un intervalo de 0,2 a 100 ng/ml. El nivel de detección del método está limitado por el nivel de ATP endógeno presente en el enzima, por el número de cuentas de fondo del fotomultiplicador y por la utilización de contadores de centelleo fuera de coincidencia. Se puede eliminar el ATP endógeno mediante filtración molecular o bien incorporando aspirasa al extracto enzimático, situándose entonces el nivel de detección en picogramos. (Rudd & Hamilton 1973, Karl et al. 1978).



### 2.8.3 Determinación cualitativa de los pigmentos fotosintéticos. Espectros de absorción "in vivo" y en extracto acetónico.

El espectro de absorción "in vivo" de las diferentes muestras de agua o cultivos puros se llevó a cabo mediante dos técnicas diferentes; una de ellas (Trüper & Yentsch 1967) consiste en utilizar células completas filtradas sobre filtros de fibra de vidrio Wattman GF/C o GF/F ya que los filtros de membrana de acetato de celulosa propuestos por otros autores (Shibata et al. 1954) dan un nivel de base excesivamente elevado en su conjunto y especialmente una absorción máxima en el infrarrojo cercano que enmascaran los espectros de absorción. Como referencia se utiliza el mismo tipo de filtro humedecido con agua. En función de la densidad de la suspensión bacteriana, se filtraban entre 5 y 50 ml sobre los filtros antes mencionados (hasta su colmatación) y se colocaban inmediatamente junto con el filtro de referencia humedecido en el portacubetas del espectrofotómetro en la posición más próxima al fotomultiplicador. Los filtros quedaban pegados por la propia humedad.

Otro método que evita las pérdidas y efectos de luz reflejada consiste en romper las células mediante sonicación (Biebl & Drews 1969) en tampón Tris-HCl, 0,025 M, pH 7,75, con un sonicador Branson Sonic Power Co, modelo B-12 a 50 W de potencia y a intervalos de 1 min hasta completar 4 min de sonicación. Durante el proceso de sonicación el vial con las células se mantenía en un baño de hielo fundente con el fin de evitar el aumento de temperatura y la desnaturalización de los cromatóforos. Después de este proceso se centrifugan a 9000 x g durante 15 min y se lleva a cabo un espectro de absorción por barrido entre 350 y 850 nm utilizando un espectrofotómetro PYE Unicam SP 1700.

Espectros de absorción en extracto acetónico.- Previamente se depositaba sobre el filtro de 1 ml de una suspensión al 10% de  $MgCO_3$  de modo que se forma una capa de 0,5 a 1 mm de espesor. Este pretratamiento evita la colmatación prematura del filtro y protege a las clorofilas de la posible degradación ácida durante la extracción (Humphrey & Wootton 1966). Después se filtraban entre 250 y 1000 ml de muestra sobre los filtros de acetato de celulosa de 0,45  $\mu m$  de poro y 47 mm de diámetro preparados según se ha descrito anteriormente. La capa de  $MgCO_3$  que contiene el material celular filtrado se toma con una espátula y se resuspende en un tubo de centrifuga, protegido de la luz, con 5 ml de acetona al 90%. La extracción se lleva a cabo a 4°C durante 12 h. Posteriormente se centrifugan los tubos a 1500 x g durante 10 min para eliminar el carbonato magnésico y los restos celulares.

Por último se efectuaba el espectro de absorción entre 350 y 850 nm con un espectrofotómetro PYE Unicam 1700 en cubetas de 1 cm de recorrido óptico. Cada uno de los picos se asignaba a los distintos pigmentos (tabla 2.3).

#### 2.8.4 Determinación cuantitativa de los pigmentos fotosintéticos. Concentración de clorofilas y bacterioclorofilas. Concentración de carotenoides.

Una vez efectuado el espectro de absorción "in vitro" (véase el apartado 2.8.3) de las muestras extraídas en acetona al 90%, se calculaban las concentraciones de los diferentes pigmentos (bacterioclorofilas, carotenoides y clorofilas algales) mediante las fórmulas detalladas a continuación, en función de sus coeficientes de absorción específico. (Takahashi & Ichimura 1968, 1970, Gloe et al. 1975, Smith & Benitez 1955, Madigan & Brock 1976).

Tabla 2.3 Máximos de absorción de las bacterioclorofilas de Chromatiaceae y Chlorobiaceae en suspensiones celulares y en disolventes orgánicos.

Familia	Posición de los picos (nm)		Desplazamiento "in vivo"
	"in vivo"	extracto acetónico	
Chromatiaceae			
Bclor <u>a</u>	825-910	775	50-135
Chlorobiaceae			
Bclor <u>c</u>	745-760	660	85-100
Bclor <u>d</u>	725-745	654	71-79
Bclor <u>e</u>	715-720	646-648	69-74

Concentración de bacterioclorofilas y clorofilas:

$$\mu\text{g/l Bclor } \underline{a} = 25,2 A_{772} \frac{v}{Vr}$$

$$\mu\text{g/l Bclor } \underline{d} \text{ o } \underline{e} = 10,2 A_{654} \frac{v}{Vr}$$

$$\mu\text{g/l Clor } \underline{a} = (15,6 A_{665} - 2,0 A_{645} - 0,8 A_{630}) \frac{v}{Vr}$$

donde  $\underline{A}$  es la absorbancia a la longitud de onda especificada;  $\underline{v}$  el volumen total del extracto en ml;  $\underline{r}$  la anchura de la cubeta utilizada para las medidas en el espectrofotómetro y  $\underline{V}$  el volumen total filtrado en litros (Yentsch 1967).

Concentración de carotenoides:

Las concentraciones de carotenoides se expresaron en unidades arbitrarias (U.A.) por litro.

$$\text{U.A./l} = A_{\lambda}^* \times v/V$$

Siendo  $A_{\lambda}^*$  la absorción corregida para cada carotenoide determinada en una cubeta de 1 cm a las longitudes de onda indicadas;  $\underline{v}$  el volumen del extracto acetónico en ml; y  $\underline{V}$  el volumen de muestra filtrado en litros (Guerrero et al. 1980).

Por un lado se mide la absorbancia máxima para la okenona a 520 nm y para el clorobacteno/isorrenierateno a 470 nm, y sus valores se corrigen para las absorciones de la bacterioclorofila  $\underline{a}$ ,  $\underline{d}$  o  $\underline{e}$  de acuerdo con las siguientes ecuaciones, y de forma similar al método "tricromático" para la clorofila algal (Parsons & Strickland 1963):

Absorción corregida de la okenona ( $A_{520}$ ):

$$A_{520}^* = A_{520} - 0,040A_{654} - 0,046A_{775}$$

Absorción corregida del clorobacteno/isorrenierateno ( $A_{470}$ ):

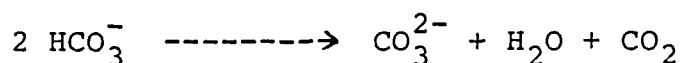
$$A_{470}^* = A_{470} - 0,040A_{654} - 0,046A_{775} - 1,000A_{520}^*$$

Con ello se consigue eliminar las posibles interferencias en la absorción de los carotenoides en los picos escogidos.

### 2.9 Determinación de la producción primaria fotosintética en la columna de agua. Producción primaria retenida en células y producción primaria total.

La producción primaria debida a la fotosíntesis bacteriana y algal ha sido analizada mediante el método de Steemann-Nielsen (1952) empleado por primera vez para bacterias fotosintéticas por Lyalikova (1957) basado en la incorporación de CO<sub>2</sub> en forma de bicarbonato radiactivo (<sup>14</sup>C)NaHCO<sub>3</sub> (Radiochemical Centre, Amersham).

Los microorganismos autótrofos, gracias al equilibrio dinámico del CO<sub>2</sub> en el agua pueden tomarlo del bicarbonato mediante la siguiente reacción:



de tal forma que, como resultado de esta incorporación, precipitan carbonatos que deben ser eliminados posteriormente para evitar interferencias.

Las muestras de agua se tomaban de las diferentes profundidades y se colocaban en 2 botellas claras y una oscura de 125 ml de volumen. Todas ellas se inoculaban generalmente con 2 µCi de bicarbonato radiactivo.

Una vez inoculadas, se incubaban "in situ" a la profundidad correspondiente, con el fin de alterar lo menos posible las condiciones naturales, durante 1-3 h entre las 10 y las 13h.

Una vez en el laboratorio se llevaban a cabo dos pautas distintas; una para determinar la producción primaria retenida en células (por filtración) y otra para determinar la producción primaria total

(Schindler et al. 1972) por congelación y desecación al vacío.

#### Producción primaria por filtración

Una vez que las muestras se hallaban en el laboratorio se procedía a filtrar la mitad de su volumen a través de membrana Sartorius SM 0,45  $\mu\text{m}$  de poro. Al finalizar la filtración se añadía 1 ml de HCl 0,1 N que disolvía los precipitados de carbonatos sedimentados en el filtro junto con las células. Posteriormente, los filtros se dejaban secar durante una noche a 30°C y se colocaban en viales con líquido de centelleo (6 ml de disolución de tolueno con PPO y POPOP) en el que los filtros se hacen transparentes y disminuye el efecto del amortiguamiento por el filtro durante el recuento (Savidge 1978).

#### Producción primaria total (por congelación y desecación al vacío)

Se tomaban 10 ml de las muestras, y se depositaban directamente en viales de centelleo. Se añadía 0,1 ml de ácido fosfórico concentrado y se hacía burbujear aire por los viales (Wessels & Birnbaum 1979) con el fin de eliminar prácticamente en su totalidad el  $\text{CO}_2$  radiactivo presente en el líquido. Posteriormente, se congelaban los viales a -20°C y se conectaban a una bomba de vacío para evaporar en frío el contenido en agua de la muestra. Una vez secos, se añadía el líquido de centelleo (6 ml) y se agitaba para resuspender el contenido .

La lectura de todos los viales se efectuaba en un contador de centelleo Nuclear Chicago Unilux II durante 10 min. El amortiguamiento de las muestras se corregía mediante una curva estándar utilizando el método de la relación entre canales y estándar externo. Los resultados se expresan en desintegraciones por minuto (dpm). Al finalizar el periodo de incubación se detenía la fotosíntesis añadiendo 1 ml de formol al 40% en cada botella.

### Cálculo de la producción primaria

Una vez se ha hallado la diferencia entre las dpm de las botellas claras y oscuras, se aplica la siguiente fórmula (Vollenweider 1974):

$$^{12}\text{C asimilado (mg/m}^3\text{/h)} = \frac{^{14}\text{C asimilado (c)}}{^{14}\text{C disponible (b)}} \times ^{12}\text{C disponible (a)} \times$$

$$\times k_1 \times k_2 \times k_3$$

$$\begin{aligned} \text{donde (a)} &= ^{12}\text{C disponible} = \text{alcalinidad en mmol/l} \times \text{factor pH} \times 12 = \\ &= \text{g } ^{12}\text{C/l disponible} \end{aligned}$$

El factor correspondiente al pH se calcula según Golterman et al. 1978.

$$(b) = ^{14}\text{C disponible} = \text{dpm añadidas}$$

$$(c) = ^{14}\text{C asimilado} = (\text{dpm de botella clara} - \text{dpm botella oscura}) \times 1,06$$

El factor 1,06 representa una corrección para la discriminación isotópica por parte de los microorganismos.

$k_1$  = corrección para el volumen alícuoto tomado; volumen filtrado o desecado al vacío/volumen total de la botella.

$k_2$  = corrección para el tiempo,  $l/t$ , siendo  $t$  el tiempo en horas.

$k_3$  = corrección de dimensión para convertir  $\text{mg/l}$  a  $\text{mg/m}^3$ , que en este caso es 1000.

Este análisis de la producción primaria requiere precauciones especiales para evitar afectar a las condiciones ambientales en que se desarrolla. Por una parte, deben conservarse las condiciones anaeróbicas evitando todo contacto con el aire por

introducción de burbujas en la botella. Otro factor importante que debe evitarse es una excesiva iluminación directa de las poblaciones bacterianas, ya que éstas están adaptadas a muy bajas intensidades luminosas y pueden resultar dañadas. Por lo demás, los experimentos de producción son parecidos a los del fitoplacton.

## 2. 10 Determinación de la actividad sulfatorreductora en la columna de agua.

El método seguido es el descrito por Jørgensen (1978), el cual se basa en el uso de  $(^{35}\text{S})\text{SO}_4^{2-}$  como aceptor de electrones para los microorganismos sulfatorreductores, que lo excretan en forma de  $\text{H}_2\text{S}$ . Las muestras de agua (125 ml) se incubaban en el laboratorio durante 24 h a la temperatura original y en la oscuridad. Al cabo de este periodo se separaban 5 ml a los que se añadían los reactivos para la fijación del sulfhídrico presente (véase el apartado 2.3). Con otros 50 ml se analizaba la concentración de sulfatos mediante el método gravimétrico (American Public Health Association 1975), precipitándolo en forma de sulfato de bario.

Posteriormente se procedía a la determinación de la radiactividad existente en las dos fracciones de sulfhídrico y sulfato. Para calcular la radiactividad contenida en la fracción de sulfhídrico, se tomaban 15 ml de los 50 ml iniciales con el sulfhídrico precipitado en forma de sulfuro de zinc (después de agitar para obtener una suspensión uniforme). Estos 15 ml se filtraban a través de filtros de membrana Sartorius de  $0,45 \mu\text{m}$  de poro. Una vez secado, el filtro se colocaba en líquido de centelleo con la misma composición, tiempo y aparato de lectura descritos en el



apartado anterior sobre la producción primaria. Los 35 ml restantes se empleaban para el análisis 'absorciométrico de la concentración de sulfhídrico mediante el método descrito en el apartado 2.6.5.

La radiactividad contenida en la fracción de sulfato, precipitado previamente en forma de sulfato bórico, se calculaba utilizando el mismo filtro empleado en el análisis gravimétrico, es decir, el resultado de la filtración de los 50 ml sobre filtros de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro. Este filtro se coloca en un vial con líquido de centelleo y se mide en un contador Unilux II durante 10 min. Una vez efectuadas las conversiones para los volúmenes totales, se calculaba la reducción de sulfato mediante la fórmula:

$$\text{mmol SO}_4/1/\text{día} = \frac{(\text{SO}_4^{2-}) \times a \times 1,06}{A \times V \times t}$$

siendo:  $(\text{SO}_4^{2-})$  la concentración de sulfato en la muestra de agua en mmol/l.

a, radiactividad presente en la fracción de sulfuro de zinc.

A, radiactividad presente en la fracción de sulfato de bario.

V, volumen total de la muestra de agua incubada.

t, tiempo de incubación en días.

1,06, el factor de corrección para la discriminación isotópica (Sorokin & Kadota 1972).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Parámetros morfométricos de las masas de agua estudiadas

Los principales parámetros morfométricos de las masas de agua estudiadas (según las definiciones de Hutchinson 1957, y los cálculos descritos en la tabla 2.1) son los indicados en la tabla 3.1. A continuación se describen las características más importantes de los lagos presentados a lo largo de este trabajo.

##### 3.1.1 Lago de Banyoles. Aspectos generales

El lago de Banyoles posee una serie de características morfométricas que lo hacen único desde el punto de vista limnológico. Desde hace mucho tiempo se conocía la existencia de unas margas en suspensión (agua turbia) en el fondo de algunas cubetas, tal como señaló Vidal (1908) al efectuar el mapa batimétrico del lago. Margalef (1946) denominó a este material "margas desleídas". Por conveniencia y brevedad, en esta Memoria lo denominaremos "lodo". Este material no puede considerarse estrictamente como sedimento ya que no se deposita de arriba a abajo, sino que más bien procede de la resuspensión de los materiales finos (yesos, margas azules de Banyoles, arcillas) por efecto de la circulación del agua freática ascendente. El flujo de agua ascendente (unos 600 l/s en todo el lago, Vidal Pardal 1960), mantiene en equilibrio dinámico los finos cristales de yeso, carbonatos y silicatos. La altura que alcanza la interfase es variable a lo largo del año, encontrándose los mínimos al final de las épocas de larga sequía y máximos después de fuertes lluvias. En la figura 3.1 se aprecian sombreadas las zonas con lodo (a las profundidades señaladas en las curvas de nivel) detectadas durante julio de 1978 por medio de ecosondación descrita en el apartado 2.2. Como puede apreciar-

Tabla 3.1 Parámetros morfométricos generales derivados de los mapas batimétricos de las masas de agua estudiadas.

Masa de agua	A (m <sup>2</sup> )	V (m <sup>3</sup> )	z <sub>m</sub> (m)	l (m)	b (m)	$\bar{z}$ (m)	L (m)	D <sub>L</sub> (m)	D <sub>V</sub> (m)	z <sub>r</sub> (m)	z <sub>g</sub> (m)	$\xi$ (m)	z <sub>c</sub> (m)	A/V	$\bar{z}/z_m$
Banyoles (III)	75x10 <sup>3</sup>	819x10 <sup>3</sup>	25(132)*	337	275	10,9	1100,0	1,13	1,31	0,08	9,3	11°30'	18	0,09	0,44
Sisó	457	2334	11,0	26	20	5,1	77,7	1,03	1,39	0,46	3,9	49°25'	-	0,20	0,46
Silet	840	1935	7,0	37	33	2,3	105,0	1,02	0,99	0,21	2,1	25°29'	-	0,43	0,33
Vilà	12450	53832	9(33)*	170	81	4,3	469,5	1,19	1,43	0,07	4,6	8°51'	5	0,23	0,48
Coromines	2897	8433	5,0	64	57	2,9	194,5	1,02	1,74	0,08	1,7	9°42'	-	0,34	0,58
Negre 1	513	1484	5,2	25	25	2,9	82,5	1,03	1,67	0,20	2,3	22°33'	-	0,35	0,56

\*Los valores entre paréntesis representan las profundidades máximas detectadas mediante sonda de gravedad en la zona con lodo en suspensión.

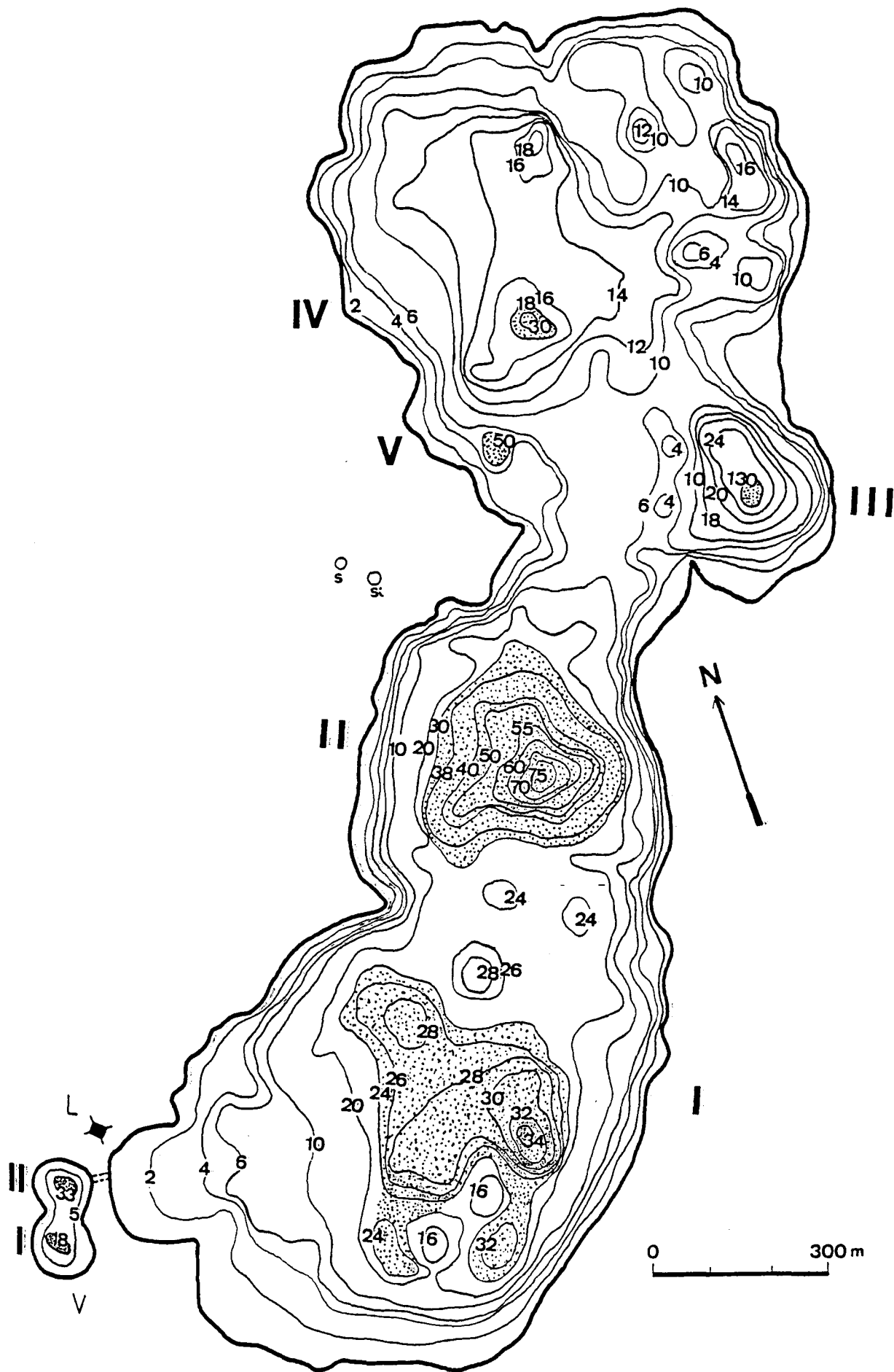


Figura 3.1 Mapa batimétrico del lago de Banyoles en el que se indica la situación de las cubetas principales (I a V), de varias lagunas próximas ( S: Sisó, Si: Silet, y V: Vilà) y del laboratorio limnológico (L). Las zonas punteadas corresponden a los niveles ocupados por lodo en suspensión.

se en las figuras 3.2 a y 3.3a-d el nivel del agua con sedimento es distinto para las diferentes cubetas en la misma fecha. Esto puede explicarse, probablemente en función del diámetro de la fisura por donde asciende y de la presión basal del agua que circula, lo que presupone que, a igual presión de base, la altura de la capa de lodo será superior en las fisuras con diámetro menor.

Los perfiles efectuados mediante ecosondación (véanse las figuras 3.3a-d) han permitido delimitar las zonas del fondo del lago con margas en suspensión. Estas se denominan cubetas I, II, III, IV y V (véase la figura 3.1). Las cubetas mayores son la I y la II, estando las restantes más localizadas. La existencia de este lodo presupone un flujo más o menos intenso de agua freática ascendente en estos puntos.

En la tabla 3.2ase detallan las profundidades detectadas mediante ecosondación y mediante un peso de 10 kg y 165 cm<sup>2</sup> de base. La ecosondación a 30 kHz es incapaz de atravesar la interfase agua/lodo ya que ésta actúa como un espejo, reflejando las ondas enviadas (Müller, comunicación personal).

### 3.1.2 Morfometría de las cubetas del lago de Banyoles

#### Cubeta I

Esta zona es bastante compleja (véase la figura 3.1), pero su fondo se conoce bien (Julià 1980). En el momento de la ecosondación (julio de 1978) el nivel del lodo estaba en los 24 m, es decir 3 m por encima del nivel presente en la cubeta II (27 m) en el mismo día. El lodo en esta zona es de color ocre claro, a diferencia de las otras cubetas, en donde tiene un color gris azulado (la típica "cendra", para los naturales del país).

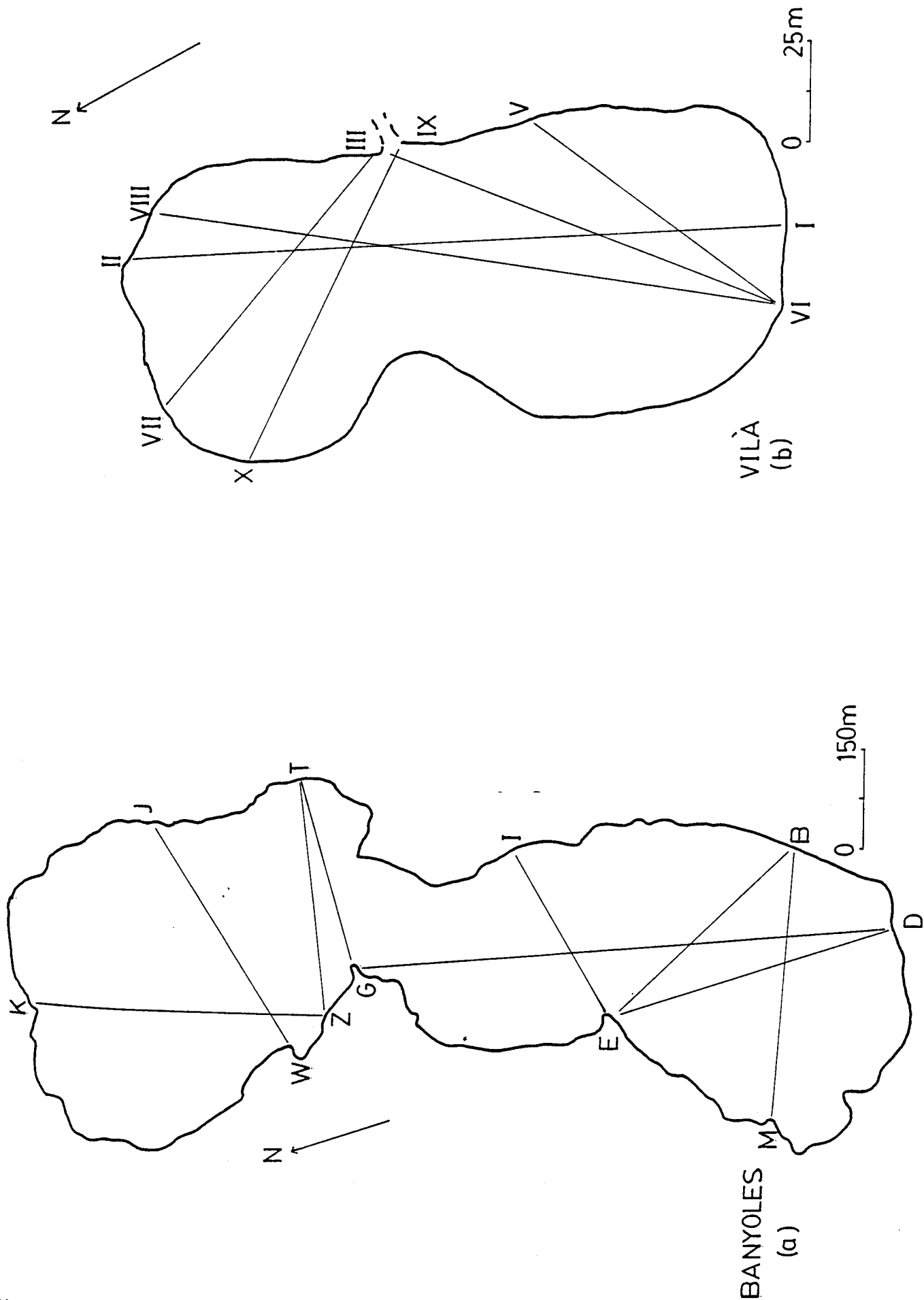


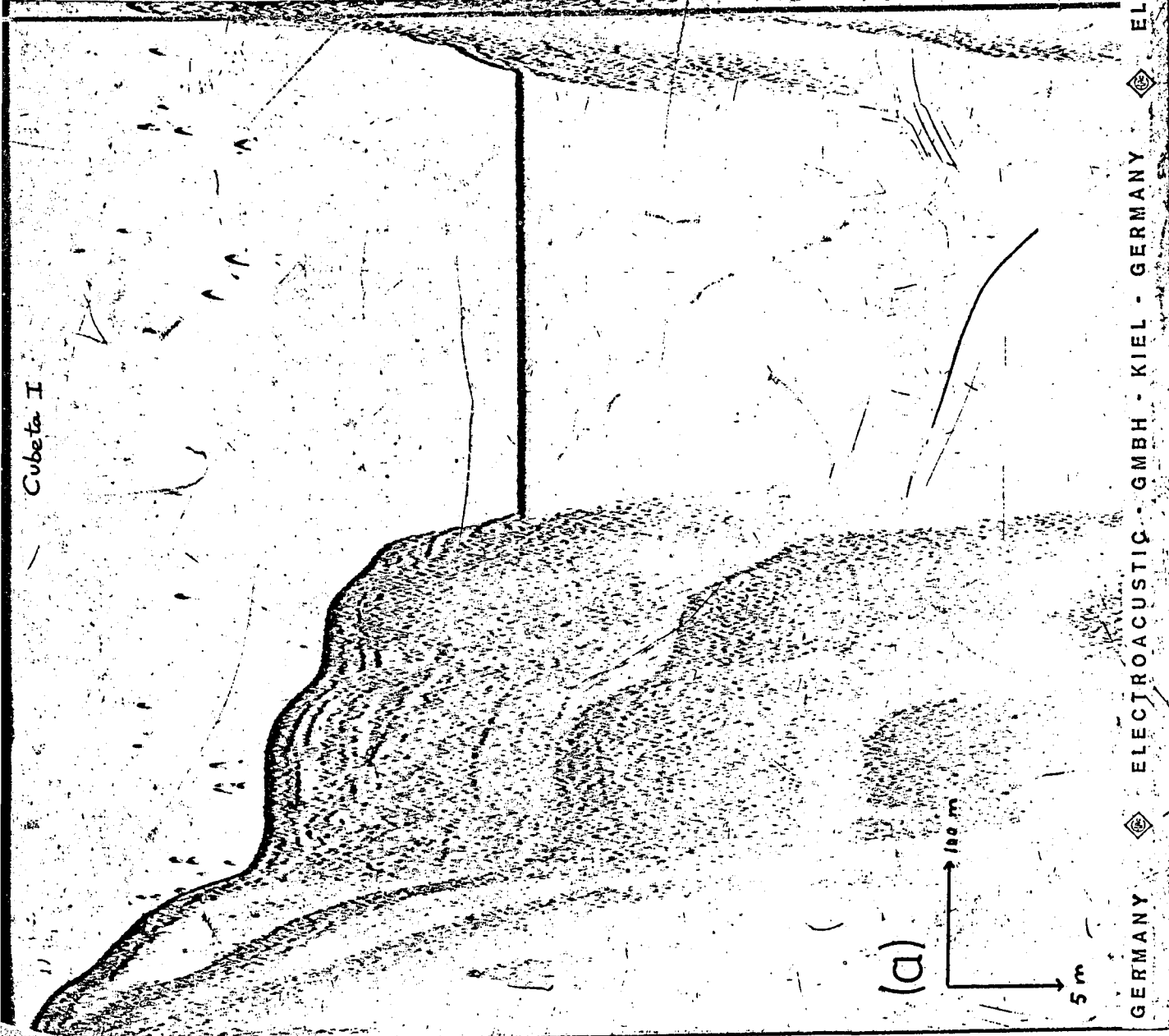
Figura 3.2 Esquema de la situación de los perfiles batimétricos efectuados por ecosondación de (a) lago de Banyoles y (b) Vilà, seleccionados para detectar las zonas con lodo en suspensión.



Figuras 3.3a-d Perfiles batimétricos del lago de Banyoles (cubetas I a V) efectuados con un ecosondador Echograph LAZ 17. Las líneas horizontales corresponden a capas de lodo en suspensión. Los transectos se han realizado según se indica en la figura 3.2a.

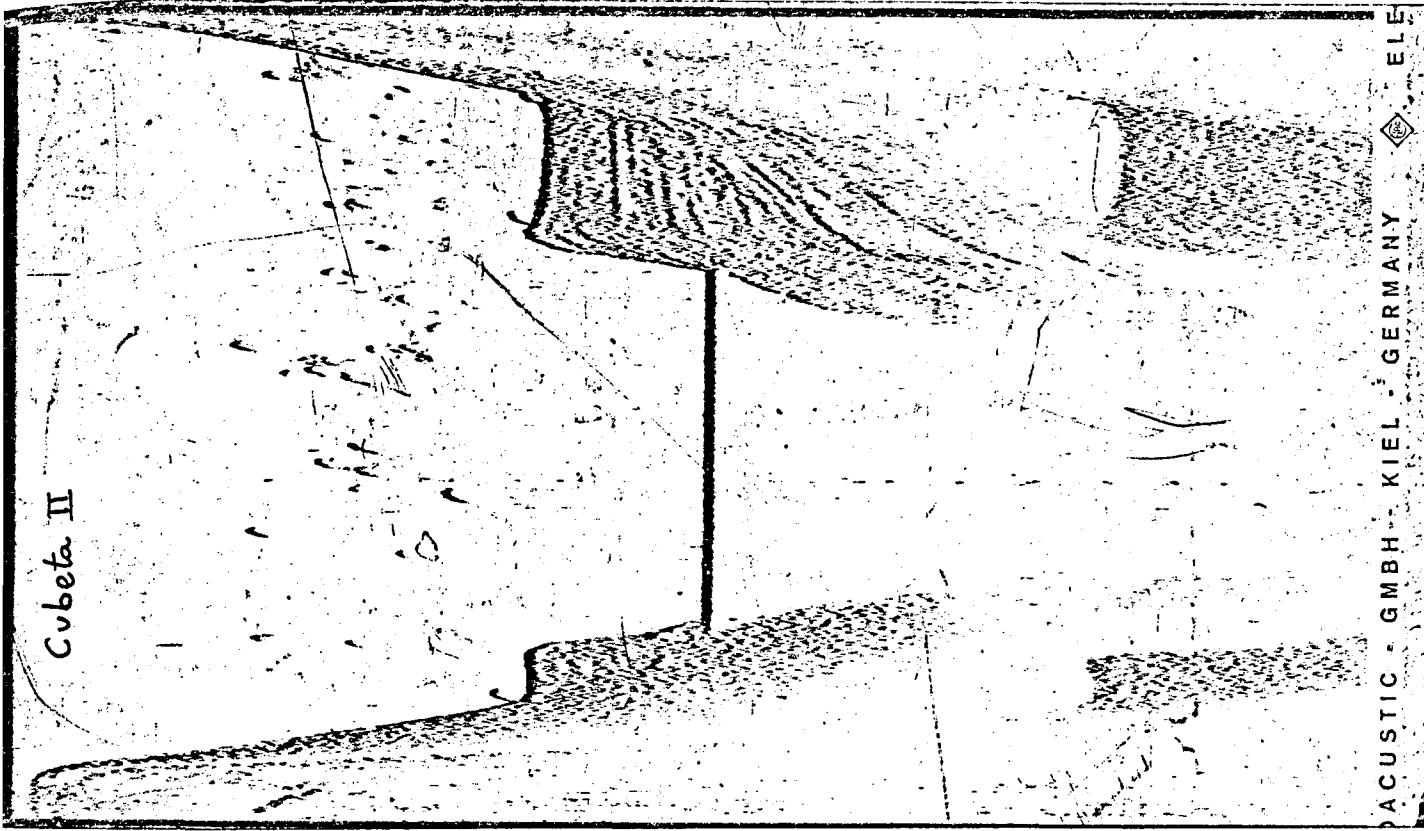


Cubeta I



GERMANY ELECTROACOUSTIC - GMBH - KIEL - GERMANY EL

Cubeta II



PACUSTIC - GMBH - KIEL - GERMANY ELE

5/D

Cubeta I

5/D

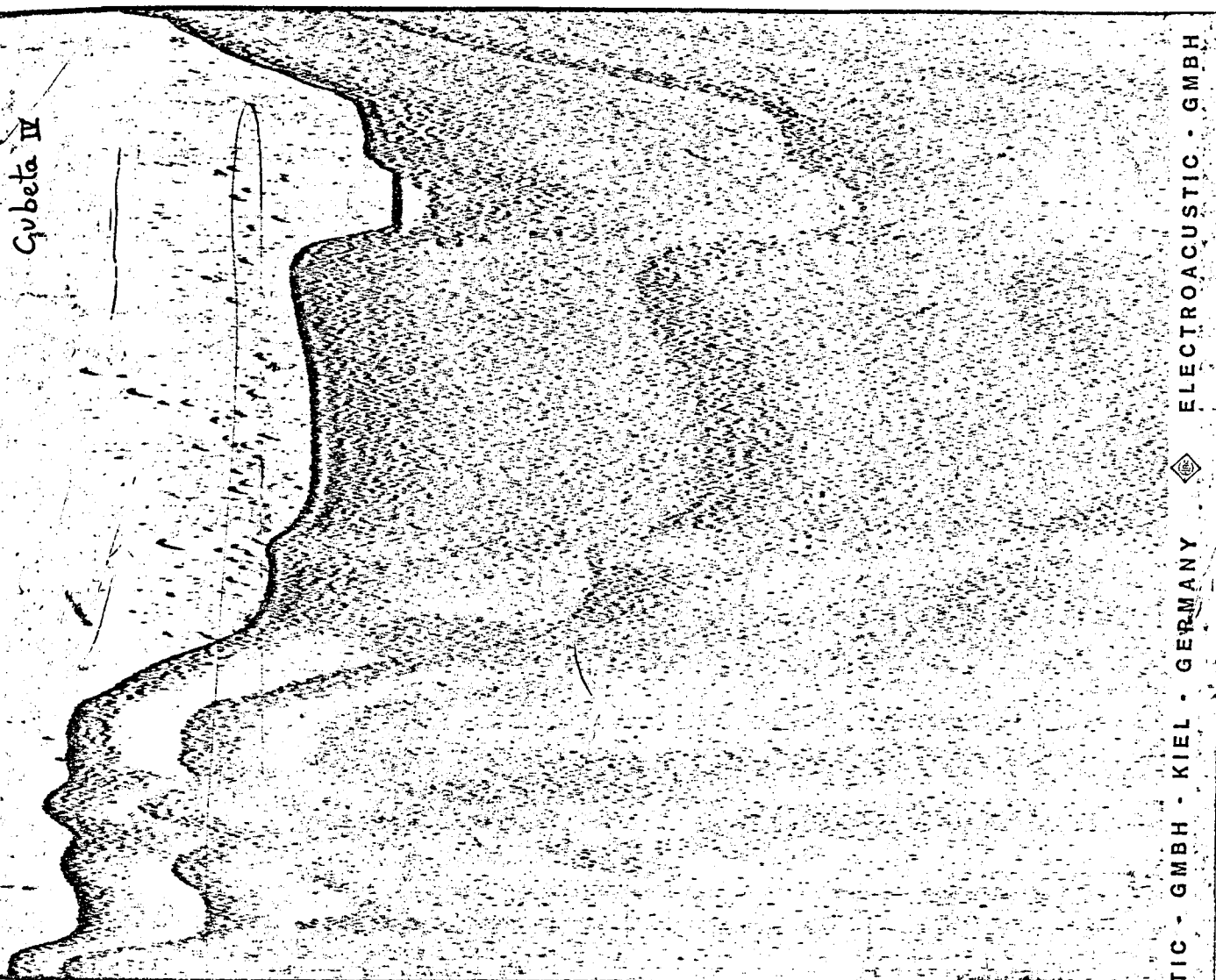
Cubeta I

(b)

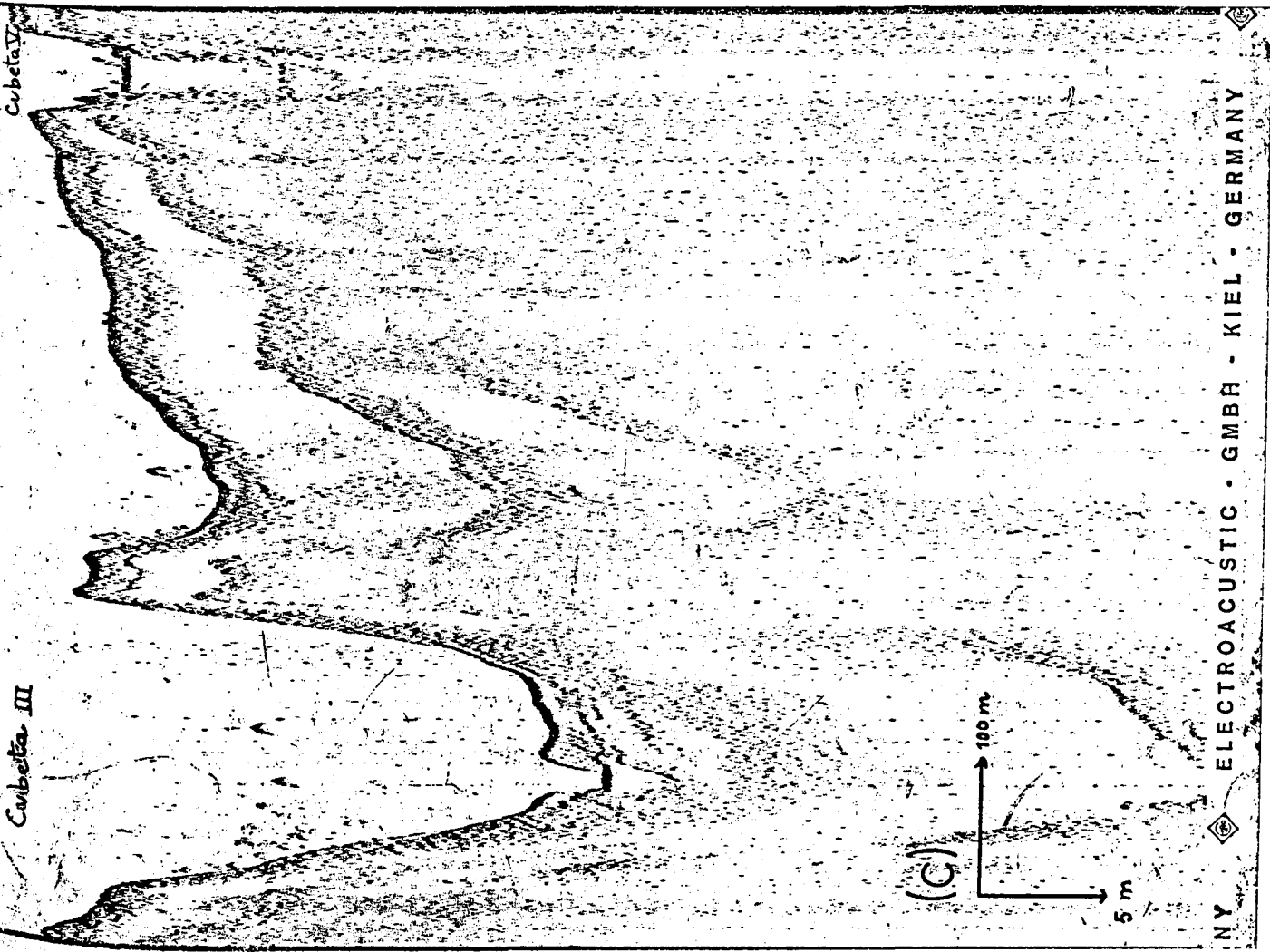
100m

J/W

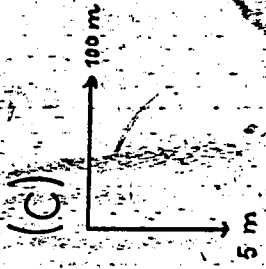
Gubeta IV



Gubeta V



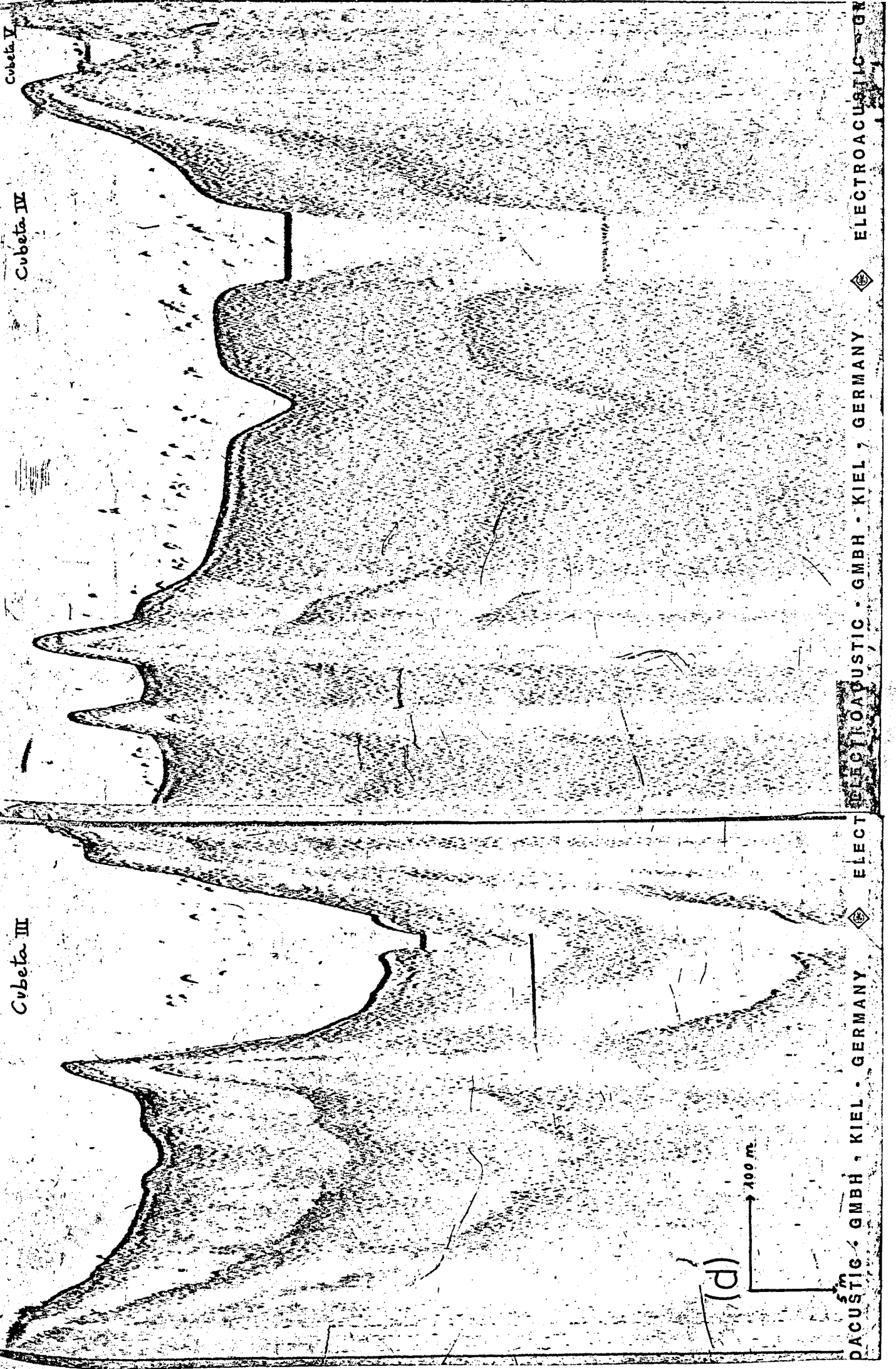
Gubeta III



Cubeta III

Cubeta IV

Cubeta V



ACOUSTIC - GMBH - KIEL - GERMANY  
ELECTROACOUSTIC - GMBH - KIEL - GERMANY  
ELECTROACOUSTIC - GBN

Tabla 3.2a Comparación de las profundidades máximas detectadas mediante dos métodos distintos en las cinco zonas del lago de Banyoles con margas en suspensión (lodo) en julio de 1978. (Los métodos de ecosondación y de sondeo gravimétrico están descritos en el apartado 2.1).

Cubeta	Profundidad (m)	
	Ecosondación*	Sondeo gravimétrico
I	24	34
II	26	75
III	25	132
IV	18	30
V	8	50

\* Estas profundidades varían según la época en que se realice la ecosondación, debido al movimiento ascendente y descendente del lodo.

### Cubeta II

En la figura 3.1 se aprecian los perfiles batimétricos realizados por ecosondación y sondeo gravimétrico. Su profundidad media es la mayor de todo el lago. La oscilación máxima observada en el lodo es de unos  $\pm 11$  m (desde los 27 m de profundidad en julio de 1978 hasta 38 m en febrero de 1979). Es muy posible que existan en el fondo del lago otras estructuras parecidas (chimeneas) a las cubetas III y V, pero que resultan difíciles de detectar al efectuar los transectos, ya que el diámetro medio de las chimeneas detectadas es de unos 25 m en su parte superior.

### Cubeta III

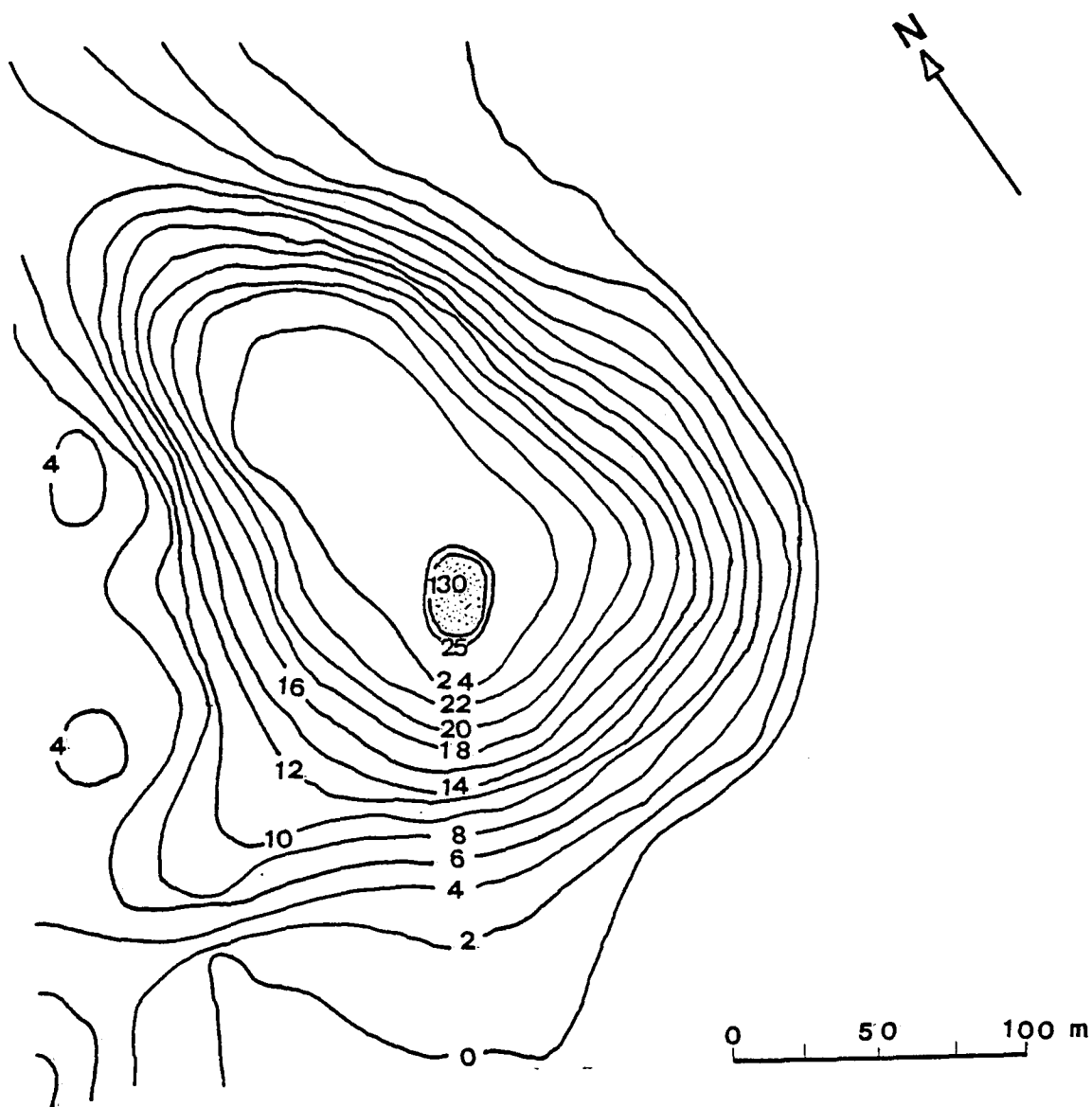
Es la cubeta que ha sido estudiada con mayor detalle en el presente trabajo. En su parte central existe una profunda fisura o chimenea, con margas azules en suspensión (lodo). La máxima altura a que llegó el lodo se alcanzó durante gran parte del año 1977, entre los 25-26 m, y la mínima a finales de 1978 y principios de 1979, entre 33-34 m de profundidad. El perfil batimétrico de esta cubeta se presenta en la figura 3.4. Previamente (véase figura 3.3) se ha indicado la disposición del fondo (interfase agua/lodo) observada por medio de ecosondación.

### Cubeta IV

Es la zona con margas en suspensión situada más al norte del lago, encontrándose a partir de los 18 m de profundidad, según se observa en el transecto efectuado por ecosondación (figura 3.3).

### Cubeta V

Es muy pequeña, tal como se observa en el transecto por ecosondación, (figura 3.3) con lodo desde los 8 m. Este lodo tiene



**BANYOLES III**

z (m)	Az (m <sup>2</sup> × 10 <sup>3</sup> )	V (m <sup>3</sup> × 10 <sup>3</sup> )
0	75,0	541,0
10	33,2	61,7
12	28,5	55,9
14	25,4	47,0
16	21,6	43,0
18	18,4	16,6
20	14,8	26,6
22	11,8	19,6
24	7,8	7,6
25	3,1	
		<u>Σ 819,0</u>

Figura 3.4 Mapa batimétrico de la cubeta III (Cap de Bou) del lago de Banyoles. La zona punteada corresponde al lodo en suspensión.

una textura distinta del resto. Es más arenoso y denso ( $1,5 \text{ g/cm}^3$ ). Además es la cubeta con sedimento más cercano a la superficie del lago.

---

Finalmente, en la figura 3,5 se presentan los perfiles generales de cada una de las cinco cubetas descritas, indicándose la zona ocupada por el lodo o margas en suspensión.

Es interesante destacar en este punto que a partir de los perfiles presentados en esta figura se podría pensar que las cubetas III, IV y V tienden a evolucionar hacia estructuras parecidas a las cubetas I y II. En el caso de las tres primeras, la línea de trazos indica que se desconoce si la zona ocupada por el lodo es una fisura o chimenea o bien tendría la estructura de una gran bolsa que puede llegar a hundirse en algún momento como parece que ha sido el caso de las cubetas I y II. En el caso de la cubeta II es la primera vez que se efectúa un perfil batimétrico completo por sonda de gravedad (figuras 3.1 y 3.5).

### 3.1.3 Lagunas próximas al lago principal (Vilà, Sisó y Silet)

#### Laguna de Vilà

La laguna de Vilà es la siguiente en superficie después del lago principal. Se encuentra al suroeste del mismo y está unida por un canal poco profundo. El perfil batimétrico, realizado por ecosondación, se presenta en la figura 3.6a (según los transectos indicados en la figura 3.2b. En él se detecta también la presencia de lodo en las zonas que reflejan las ondas acústicas. Tiene dos chimeneas (figuras 3.6a y 3.6b) con lodo ( $d = 1,32 \text{ g/cm}^3$ ). En realidad esta laguna es una dolina formada por dos hundimientos unidos. La forma de la orilla es más bien alargada ( $D_L = 0,67$ ) y con una pendiente de  $8^\circ 51'$ , así pues muy suave (si



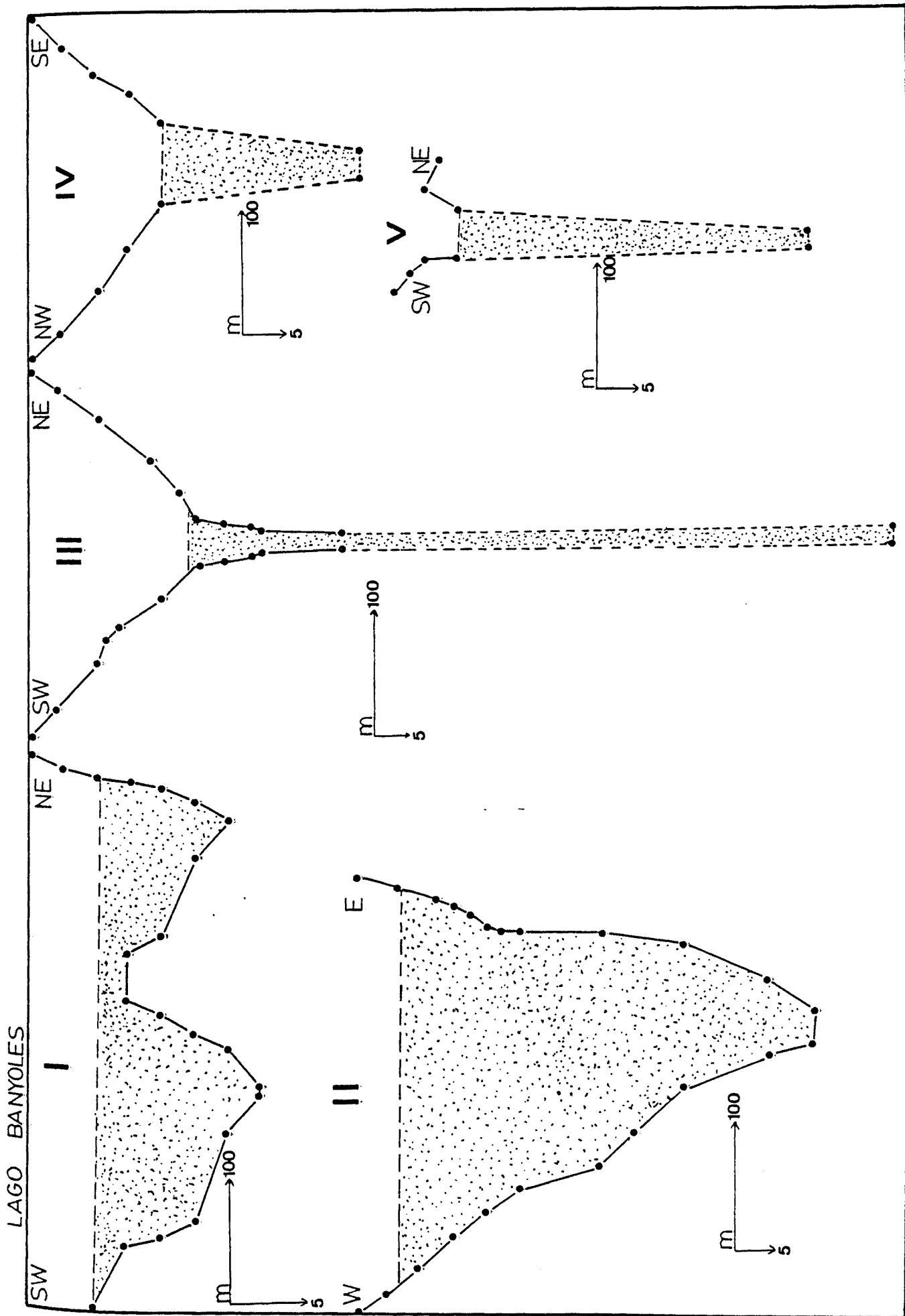
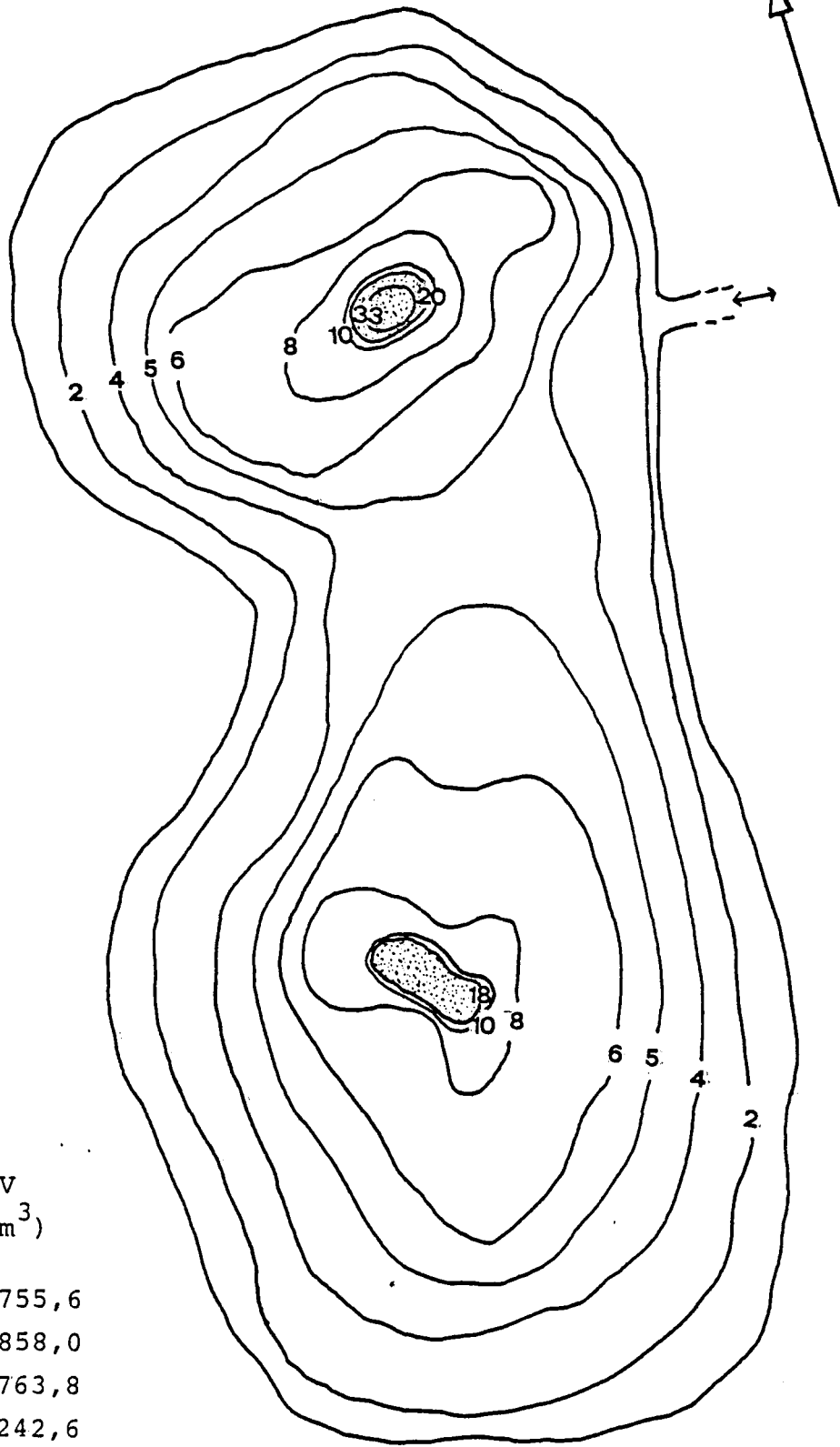


Figura 3.5 Perfiles batimétricos de las distintas cubetas de Banyoles ( I a V) efectuados mediante sonda de gravedad. La zona punteada corresponde al lodo en suspensión.

VILÀ

II

I



z (m)	Az (m <sup>2</sup> )	V (m <sup>3</sup> )
0	12450,0	
2	9305,1	21755,6
4	6552,9	15858,0
6	3210,9	9763,8
8	2031,4	5242,6
9	393,0	1212,0
	$\Sigma$ 53832,0	

0 25 m

Figura 3.6a Mapa batimétrico de la laguna de Vilà con indicación de la posición de las cubetas (I y II) con lodo en suspensión (zona punteada).

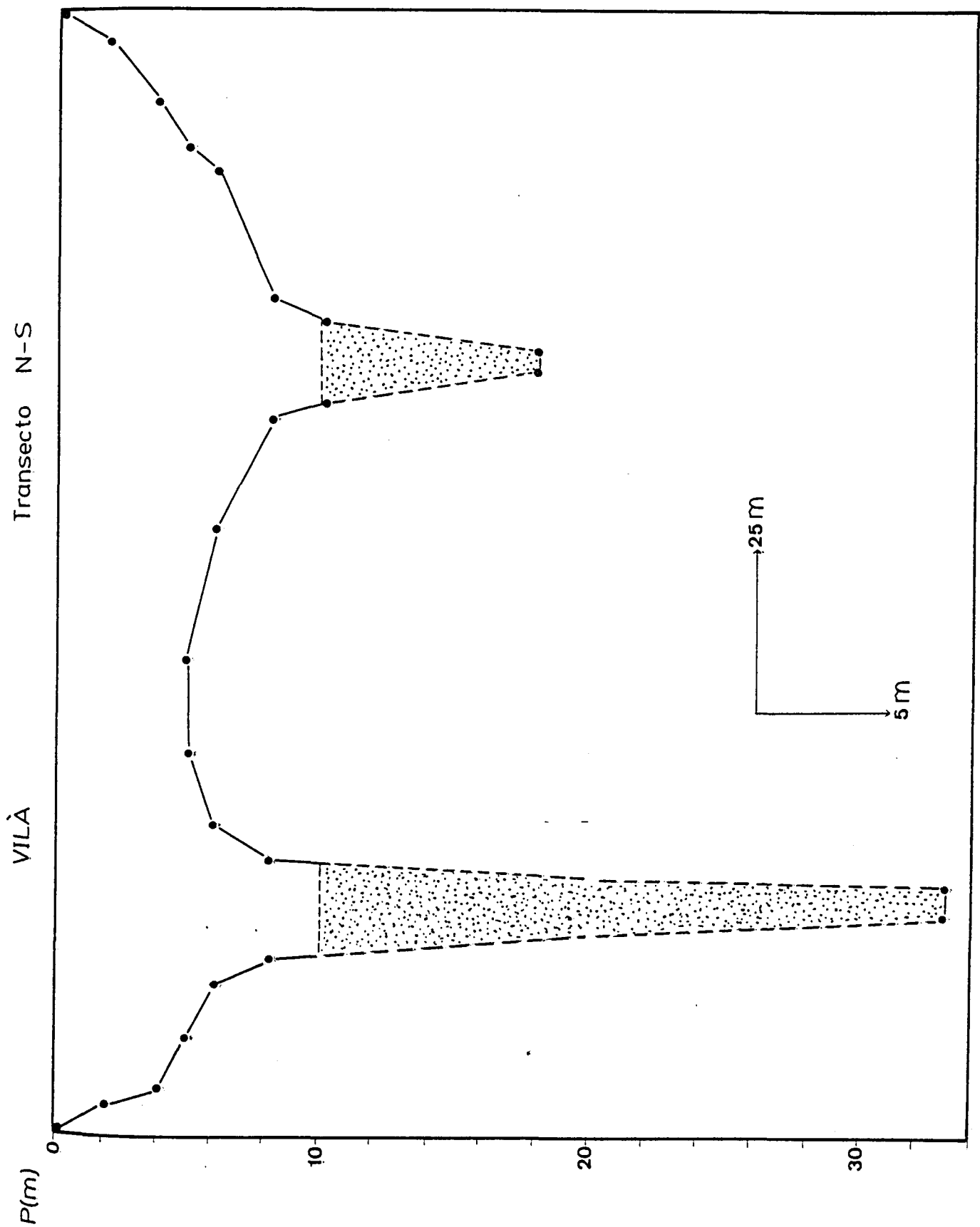


Figura 3.6b Perfil batimétrico de las cubetas de Vilà ( I y II ) efectuados mediante sonda de gravedad. La zona punteada corresponde al lodo en suspensión.

no se tienen en cuenta las dos chimeneas). Según el valor de  $z/z_m$ , la forma general de la cubeta puede aproximarse a un sinusoide.

Se ignora el flujo de agua que penetra por el fondo, ya que existe el canal citado que la une al lago y que la mantiene al mismo nivel de agua que éste.

También en este caso es la primera ocasión en que se efectúa un perfil batimétrico completo que incluya las zonas más profundas ocupadas por lodo (figuras 3.6a, b y 3.7).

### Laguna de Sisó

La laguna de Sisó es una pequeña masa de agua situada al oeste del lago. Es una laguna rectangular (figura 3.8 y tabla 3.2b) con una profundidad media elevada (8,4 m), un desarrollo de la orilla próximo a la unidad (lago circular), con una profundidad relativa ( $z_r$ ) elevada, de 0,46, y de gran estabilidad, característica típica de los lagos de pequeña área pero profundos. La pendiente media es la mayor del conjunto de lagunas, alcanzándose los  $49^{\circ}25'$ . El valor de  $z/z_m$  de 0,76 la aproxima a un elipsoide de revolución (Neumann 1959).

De la laguna sale un pequeño requero que circular paralelamente a la riera Castellana, la cual también recoge actualmente el agua de otra laguna cercana formada recientemente (laguna de Silet).

El caudal de salida se ha estimado en  $3 \text{ m}^3/\text{h}$  por lo que tomando una evaporación media de  $3 \text{ m}^3$  diarios (Planas 1973), y debido a que no existen aportes superficiales, el agua necesaria para compensar las pérdidas debe entrar en profundidad, como es frecuente en las estructuras cársticas de este tipo. Se ha estima-

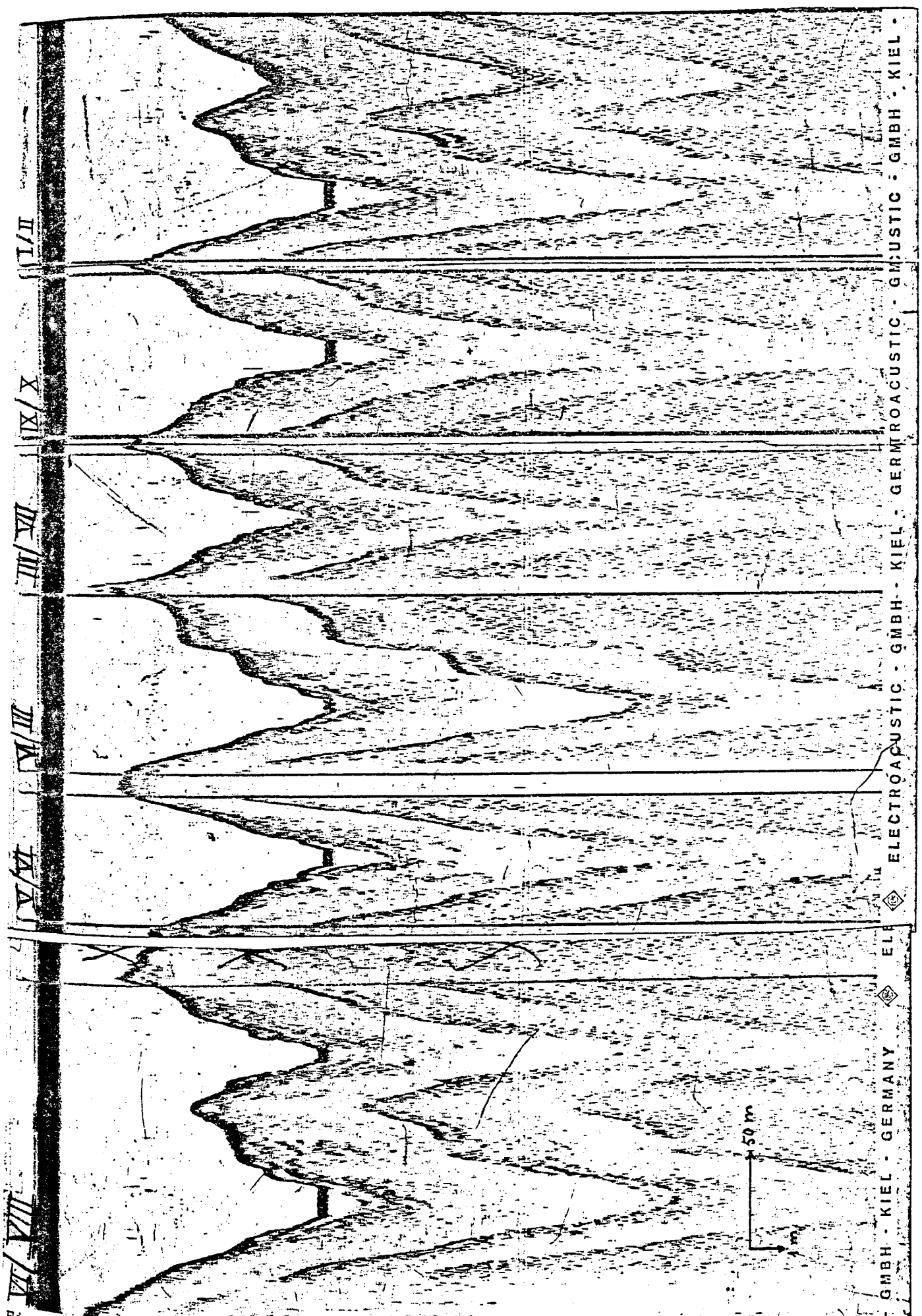
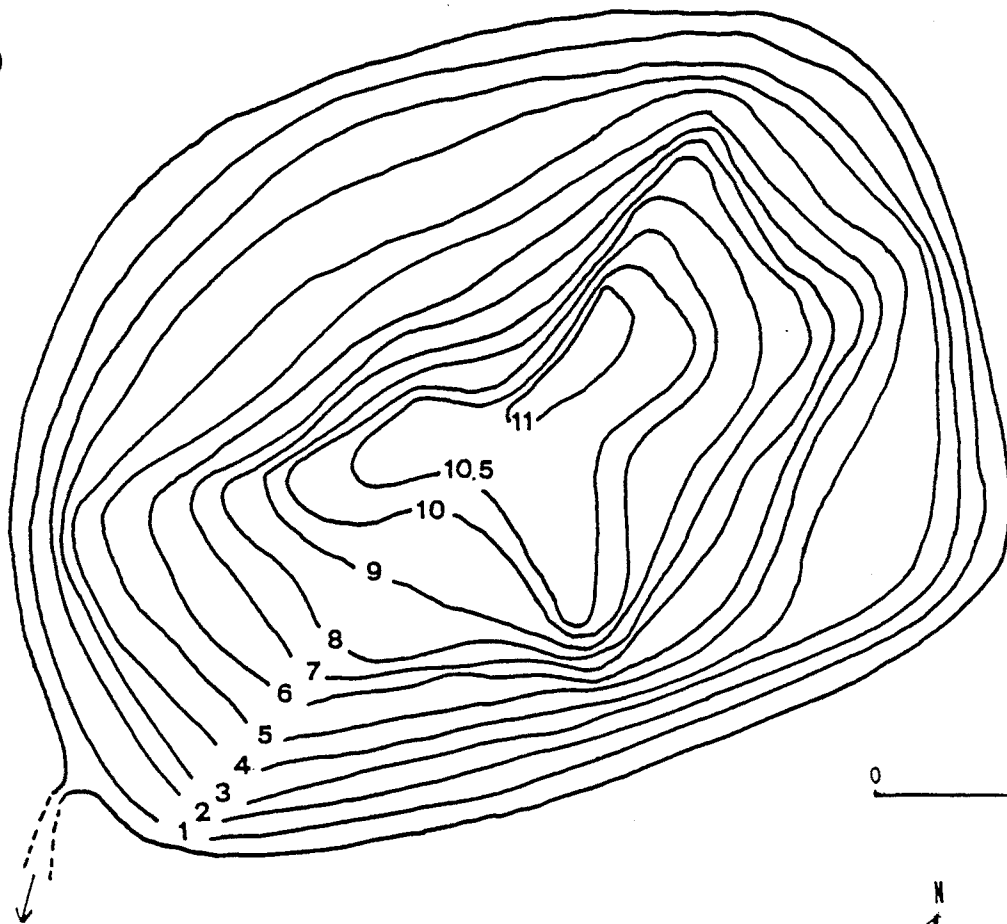


Figura 3.7 Perfiles batimétricos de la laguna de Vilà, efectuados con un ecoson-  
 dador Echograph LAZ 17. Las líneas horizontales corresponden a capas de lodo en  
 suspensión. Los transectos se han realizado según se indica en la figura 3.2b.

SISÓ

(a)



(b)

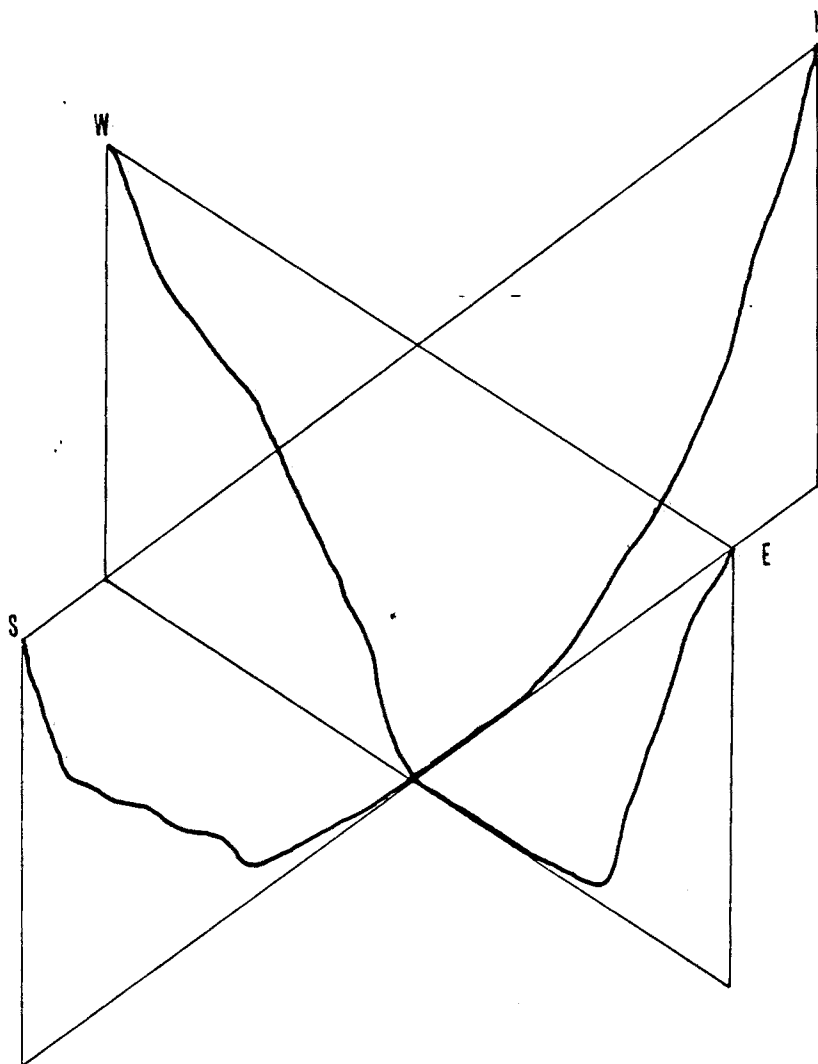


Figura 3.8a Mapa batimétrico de la laguna de Sisó . (b) Perfiles verticales en dirección norte-sur y este-oeste.

Tabla 3.2b Distribución vertical de las áreas y volúmenes parciales de la laguna de Sisó.

z (m)	Az (m <sup>2</sup> )	V (m <sup>3</sup> )
0	457	430,5
1	404	381,0
2	358	336,5
3	315	281,5
4	248	225,5
5	203	184,0
6	165	149,5
7	134	122,0
8	110	95,0
9	80	70,0
10	50	40,5
10,5	31	18,0
11	5	
		$\Sigma$ 2334,0

do que el tiempo de renovación del agua en la laguna es de unos 0,22 años, es decir, la tasa de renovación es de 4,62 veces/año. La laguna está rodeada de una vegetación relativamente densa que la protege del viento y que, por lo tanto, dificulta la mezcla vertical de la columna de agua.

#### Laguna de Silet

La laguna de Silet, o estany Nou, está situada a unos 100 m de la laguna Sisó en la dirección del lago principal. Es de formación muy reciente, ya que empezó a hundirse el 12.11.78, en un campo de frutales. Una semana después ya había alcanzado prácticamente su tamaño actual, aunque después ha seguido hundiéndose lentamente. El agua, durante el primer mes de formación, tenía un color ceniciento típico, clarificándose después. La profundidad máxima actual es de 7 m, y la pendiente media de  $25^{\circ}29'$ . En la figura 3.9 se presenta el mapa batimétrico y las áreas y volúmenes parciales en función de la profundidad. Esta laguna también carece de aportes superficiales de agua y durante la primavera de 1979 el flujo de salida era de 120 l/h.

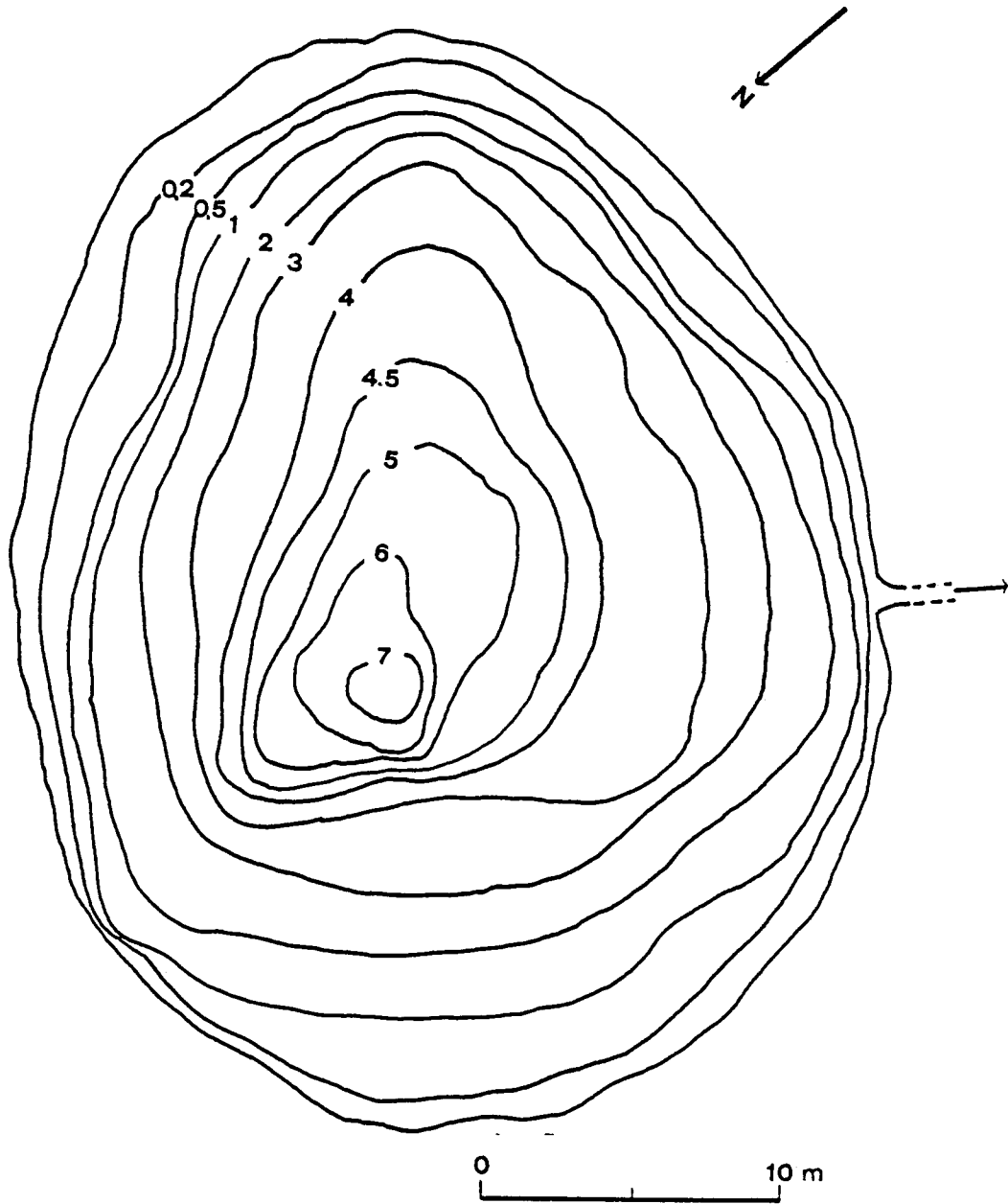
Debido a la reciente formación de esta laguna, en esta Memoria se presentan tan sólo las características morfométricas, aunque actualmente ya existen poblaciones de bacterias fotosintéticas.

#### 3.1.4 Lagunas de Sant Miquel de Campmajor (Coromines y Negre 1)

En el valle de Sant Miquel de Campmajor, al oeste del lago de Banyoles, se encuentra un conjunto de lagunas formadas por hundimientos del terreno (Trilla et al. 1979). Dos de estas lagunas han sido estudiadas a lo largo del presente trabajo en lo que respecta a la morfometría y características fisicoquímicas del agua (Coromines y Negre 1). En estas lagunas se presentan durante casi



SILET



z (m)	Az (m <sup>2</sup> )	V (m <sup>3</sup> )
0	840	
0,2	754	159,4
0,5	652	210,9
1	556	302,1
2	438	497,2
3	331	385,0
4	176	254,0
4,5	107	71,0
5	64	42,7
6	21	42,8
7	4	12,9
		<hr/>
		Σ 1935,2

Figura 3.9 Mapa batimétrico de la laguna de Silet.

todo el año densas poblaciones de bacterias fotosintéticas, principalmente Chlorobiaceae. A continuación se describen brevemente las principales características morfométricas de esas dos lagunas.

### Laguna de Coromines

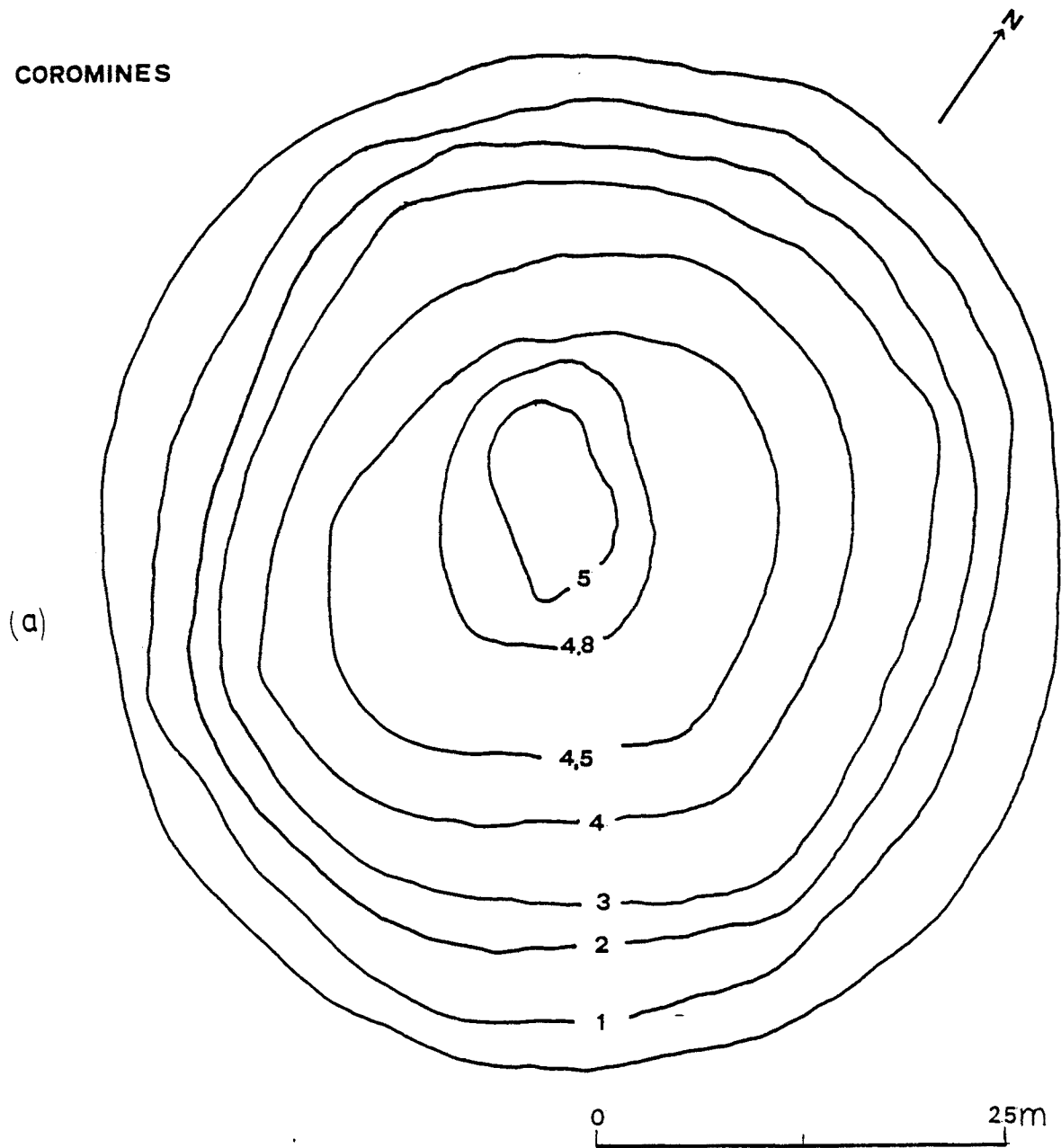
Esta laguna no tiene entrada de agua por el fondo y, por lo tanto, el nivel del agua depende de la pluviosidad y evaporación. Es la mayor de las lagunas de este valle, con un diámetro de 64 m y forma circular (el desarrollo de la orilla es muy próximo a la unidad,  $D_L = 1,02$ ).

La profundidad relativa es muy baja ( $z_r = 0,08$ ) y el desarrollo del volumen elevado ( $D_V = 1,71$ ). Toda la columna de agua se encuentra muy afectada por los factores ambientales. La forma de la cubeta se acerca a un elipsoide ( $\bar{z}/z_m = 0,57$ ). Esta laguna se halla en el fondo de una zona de hundimiento de fuerte pendiente ( $50^\circ$ ) con paredes recubiertas de una densa vegetación arbórea que llega hasta el borde del agua. El nivel del agua no es constante, sino que oscila  $\pm 1,5$  m, en función de la estación del año y de su utilización para el riego. En la figura 3.10a se presenta el mapa batimétrico completo de esta laguna.

### Laguna Negre 1.

Es mucho más pequeña que la anterior y se encuentra a poca distancia de ella (125 m). Es completamente circular ( $D_L = 1,03$ ) y una pendiente media de  $22^\circ 33'$ . También está situada en un hundimiento del terreno en cuyo fondo se encuentra la laguna y cuya pendiente es, en el margen, de aproximadamente  $50-60^\circ$ . La profundidad relativa de la masa de agua es baja, lo que sugiere una escasa estabilidad del agua. La forma de la cubeta se aproxima igual-

COROMINES



z (m)	Az (m <sup>2</sup> )	V (m <sup>3</sup> )
0	2897,0	2629,3
1	2361,7	2157,0
2	1952,4	1763,5
3	1574,5	1306,2
4	1039,2	410,8
4,5	604,1	128,4
4,8	251,9	37,8
5	125,9	

Σ 8433,0

Figura 3.10a Mapa batimétrico de la laguna de Coromines.

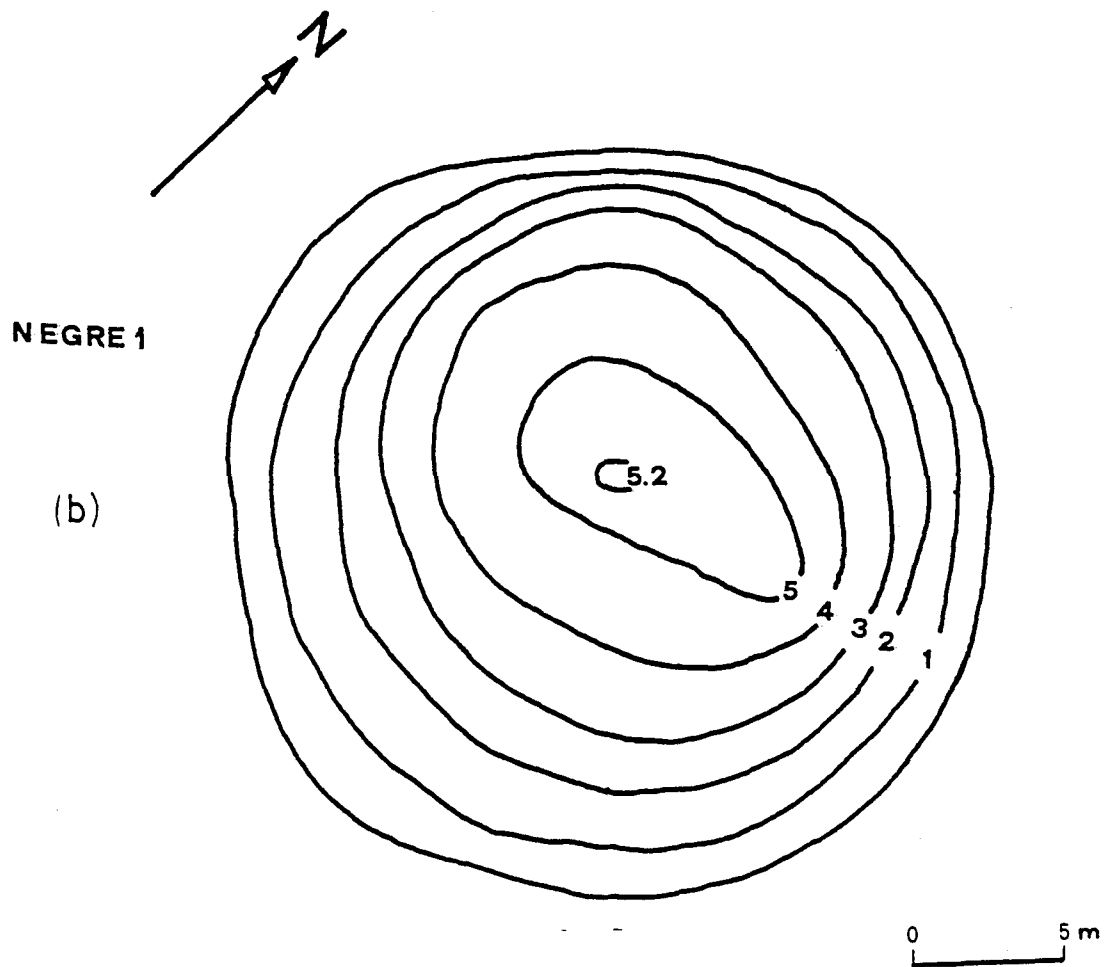
mente a un elipsoide.

Tampoco en esta laguna existe salida de agua, con excepción de la evaporación, que puede hacer oscilar  $\pm 1$  m el nivel del agua. Está rodeada por una densa vegetación arbórea que descien- de por las laderas de la zona de hundimiento, lo cual disminuye la iluminación, y ocasiona que durante gran parte del año el sol no incida directamente sobre el agua. El mapa batimétrico y los volúmenes parciales se indican en la figura 3.10b.

Al comparar los parámetros morfométricos de las diversas masas de agua estudiadas (véase la tabla 3.1) se deducen algunas conse- cuencias limnológicas de gran significado e influencia en los es- tudios microbiológicos posteriores. Por un lado, es interesante comparar además de los parámetros directos (tales como  $A$ ,  $V$ ,  $z_m$ ,  $l$ ,  $b$ ,  $L$ , etc.), algunos parámetros deducidos, como la profundidad relativa, el desarrollo de la orilla, el desarrollo del volumen, el cociente área/volumen, el cociente profundidad media/profundi- dad máxima y la pendiente media.

La profundidad relativa ( $z_r$ ) expresa la profundidad máxima en relación con el diámetro medio en tanto por uno; es un indicador de la estabilidad de la masa de agua en relación con la mezcla vertical. El valor es directamente proporcional a la dificultad de mezcla, de tal modo que la laguna más estable es la de Sisó, seguida por Silet, Negre 1, Banyoles (cubeta III) y Vilà.

El desarrollo de la orilla ( $D_L$ ) es un reflejo del origen geo- lógico de los lagos (véase el apartado 2.1). Este conjunto de lagunas estudiadas corresponde al tipo 46 de Hutchinson (1957), grupo en el que están incluidos los lagos casi circulares origi- nados por disolución y hundimiento de los materiales de base. En la mayoría de las masas de agua estudiadas, excepto Vilà, el



z (m)	Az (m <sup>2</sup> )	V (m <sup>3</sup> )
0	512,5	
1	425,0	468,0
2	356,2	390,6
3	231,2	293,7
4	162,5	196,8
5	87,5	125,0
5,2	1,5	8,9
		<hr/>
		Σ 1483,0

Figura 3.10b Mapa batimétrico de la laguna Negre 1.

desarrollo de la orilla se acerca mucho a la unidad, corroborando su forma casi circular. La excepción citada, corresponde a una masa de agua que ocupa dos hundimientos contiguos siendo, en realidad, dos cubetas unidas que en conjunto dan una forma más alargada.

El desarrollo del volumen ( $D_v$ ) indica la relación entre el volumen del lago y el de un cono de área basal  $A$  altura  $z_m$  (cono equivalente); por lo tanto, cuanto mayor es el valor, más se aleja de distribución real del volumen de la del cono equivalente.

El cociente área/volumen (véase la tabla 3.1) señala la proporción de agua que está en contacto con las paredes. Esto es interesante desde el punto de vista biológico porque está relacionado con las posibles interacciones fisicoquímicas que se presentan en la zona de contacto (intercambio de sustancias o bien intercambio de calor, el cual repercute en la dinámica térmica del conjunto de la masa de agua).

Por otra parte, en la figura 3.11 se representan las curvas volumen/profundidad de Banyoles (III), Sisó, Vilà, Coromines, y Negre 1. De ellas se deduce que en los lagos poco profundos existen extensas zonas expuestas a la luz (lo cual contribuye a la alta producción primaria) y en los más profundos (Banyoles III) grandes volúmenes de agua reciben luz más tenue y tienen, por lo tanto, menor capacidad potencial de producción primaria.

En esta exposición de los parámetros morfométricos se han omitido algunas lagunas estudiadas esporádicamente, como las de la Guardia, Negre 2, Camós, Planaferrana y Tres Creus (en Sant Miquel de Campmajor) y las lagunas Ordis, Espolla, Alt de l'Estanyell, Cendra y Montalt (en la zona más próxima a Banyoles).

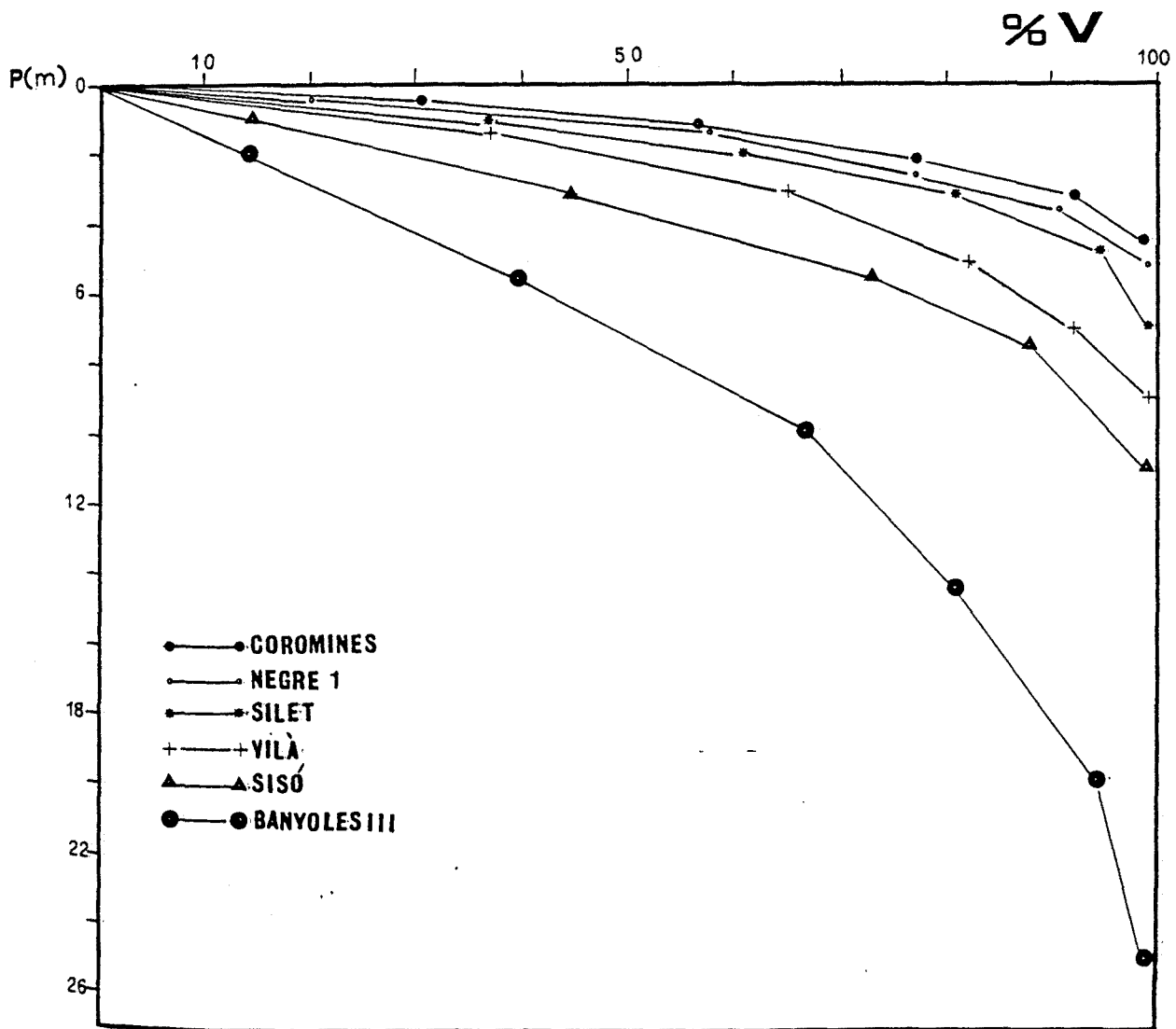


Figura 3.11 Curvas profundidad-volumen de las masas de agua estudiadas. El volumen está indicado en % .

### 3.2 Características físicas del agua

El conjunto de características fisicoquímicas que se describen en este apartado y en el siguiente nos permite dividir las masas de agua en dos grupos bien diferenciados, holomícticas y meromícticas, en función de la existencia de mezcla vertical en la columna de agua. En las lagunas de Sisó, Coromines y Negre 1 se presenta una mezcla vertical anual en otoño, como corresponde a los lagos típicos de nuestra zona climática. Son lagunas holomícticas (monomícticas) templadas. En todas las cubetas del lago de Banyoles y en Vilà se presenta una meromixis peculiar debida a la presencia de margas en suspensión permanente, cuyo contacto con el agua superior determina cambios bruscos de conductividad, temperatura, potencial redox y densidad, los cuales podrán apreciarse cuando se traten los parámetros correspondientes. Esta meromixis ha sido mencionada por Hutchinson (1978, pp. 192-194) al comentar un trabajo sobre Banyoles de Miracle (1974) y ha sido descrita también por Guerrero et al. (1978).

Por otra parte, en dos de las masas de agua estudiadas, Banyoles III y Vilà, existe una segunda zona de cambio brusco en la conductividad, potencial redox, etc., en la columna de agua, lo cual origina otra meromixis estable que determina una zona (monimolimnion) donde se desarrollan las poblaciones de bacterias fotosintéticas del azufre y que, por lo tanto, será la única estudiada con detalle en la presente Memoria. Desde este punto de vista, y por la razón expresada, consideraremos como meromícticas únicamente Banyoles III y Vilà.



### 3.2.1 Distribución de la temperatura

#### Banyoles III

En la figura 3.12a se representan las distribuciones de la temperatura durante el periodo comprendido entre 1976 y 1978, como ejemplo de la dinámica térmica de la cubeta.

Se presentan dos periodos de estratificación estival (zona con trama) con una fuerte termoclina (gradiente superior a  $1,8^{\circ}\text{C}/\text{m}$ ). El periodo de estratificación térmica comprende desde los meses de mayo hasta finales de noviembre.

Una característica constante de los lagos meromícticos es el calentamiento diferencial del monimolimnion, que también se da en esta cubeta. Alrededor de los 18 m de profundidad se inicia una inversión térmica del monimolimnion que, en este caso, tiene una temperatura de unos  $2^{\circ}\text{C}$  superior a la de las capas situadas inmediatamente por encima de la quemoclina. El incremento térmico en esta zona es explicado por algunos autores (Culver & Brunskill 1969, Goehle & Storr 1978) como debido al efecto invernadero por la absorción solar de los pigmentos de bacterias fotosintéticas en una capa más densa y aislada. Además, en el caso de Banyoles III la temperatura aumenta a causa del intercambio térmico con el lodo situado en la parte central de la cubeta. En la figura 3.12b se indican las isolíneas de temperatura a lo largo de dos transectos (N-S y W-E) de Banyoles III correspondientes al 9-4-78, al principio de la estratificación térmica. En la figura se observa un enfriamiento progresivo hacia el fondo hasta los 18-19 m de profundidad. A partir de este punto aumenta de nuevo, hasta superar en  $2^{\circ}\text{C}$  la mínima anterior. Esta inversión térmica es importante en la comprensión de la dinámica de los microorganismos anaerobios en Banyoles III ya que es un indicador de la estratifi-

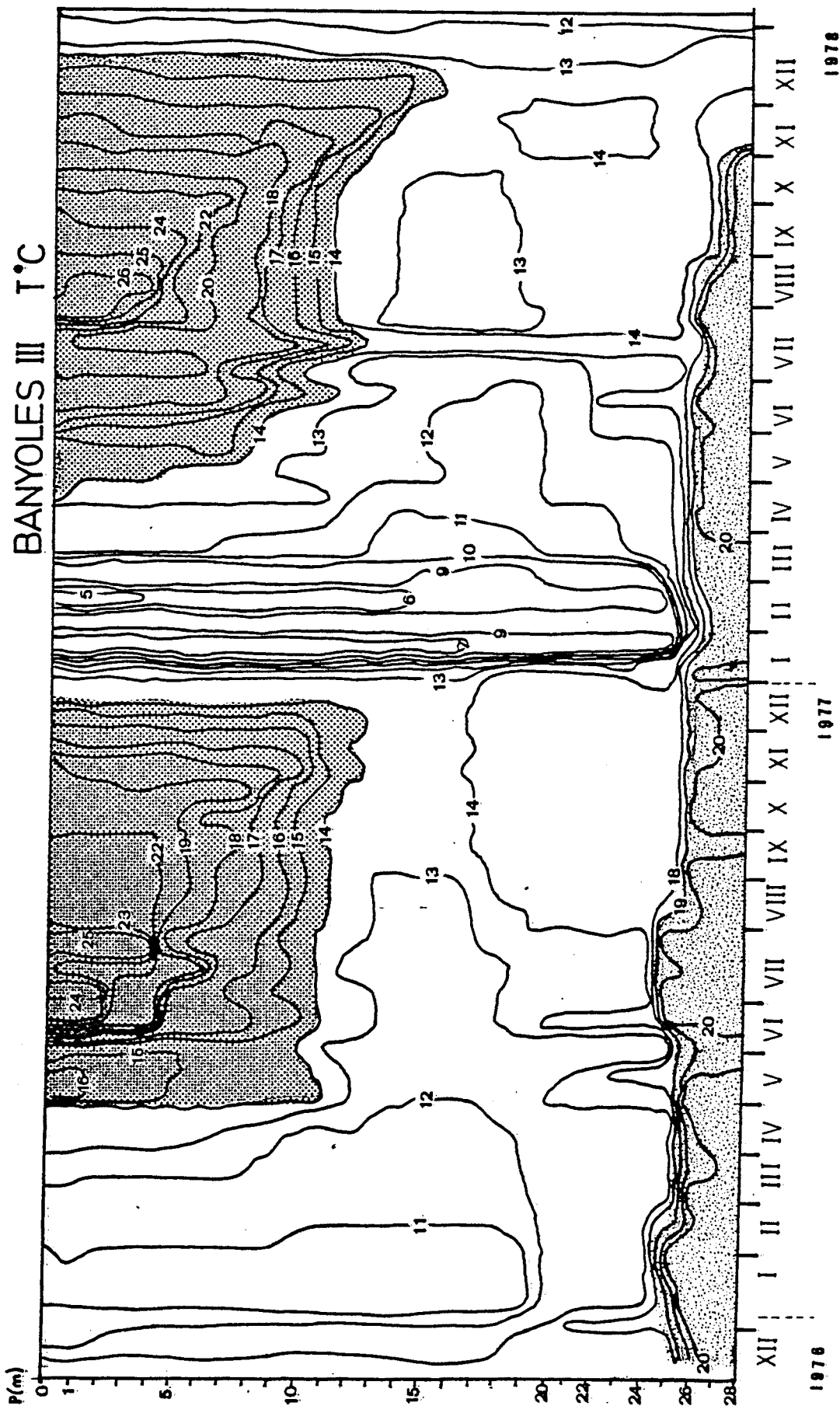


Figura 3.12a Distribución vertical y estacional de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en Banyoles III (diciembre 1976 - diciembre 1978). La trama densa corresponde al epilimnion y a la termoclina. La trama con punteado fino señala la zona ocupada por el lodo en suspensión.

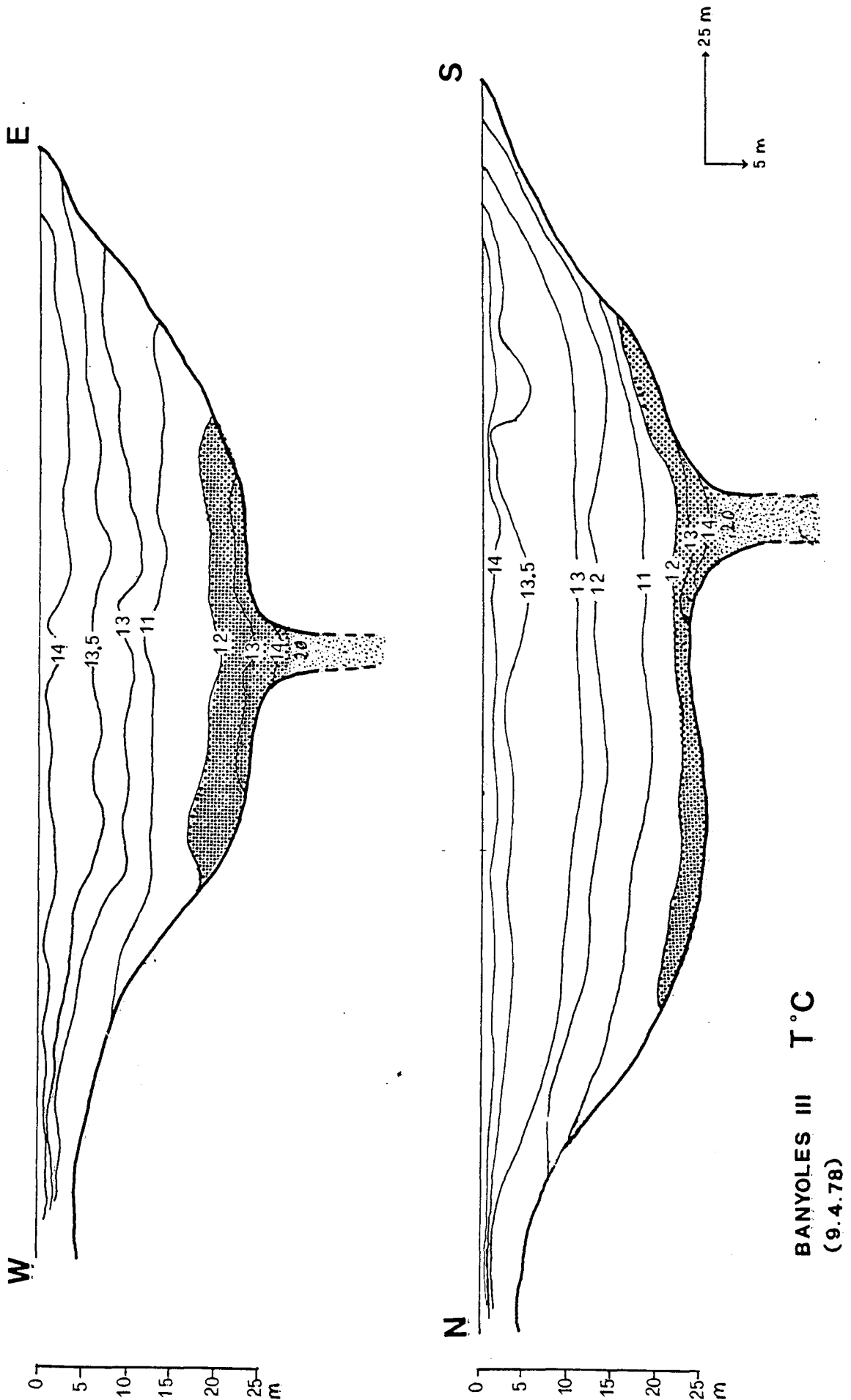


Figura 3.12b Perfil vertical de la distribución de la temperatura en Banyoles III el 9.4.78. La trama densa corresponde al monimolimnion y la trama con punteado al lodo en suspensión.

cación monimolimnética y de la estabilidad que permite el desarrollo de poblaciones bacterianas fotosintéticas.

### Laguna de Sisó

La distribución de la temperatura en la laguna de Sisó (figura 3.13) es típica de un lago monomíctico templado cuya temperatura mínima es superior a los 4°C. Existe un periodo de estratificación estival que se inicia en mayo-junio y termina en septiembre-octubre. El periodo de mezcla vertical, a diferencia de Banyoles III, es brusco en toda la columna de agua. La temperatura máxima, 23°C, se alcanzó en 30.7.78 y la mínima (4,5°C) en febrero de 1978, en superficie.

En los momentos de máxima estratificación la termoclina alcanza un gradiente máximo de 4°C/m. La termoclina no es muy profunda, ya que sólo alcanza una profundidad máxima de 3-5 m y por término medio de 1-2 m, determinando por lo tanto, un epilimnion exiguo con un gradiente muy intenso en la termoclina. La escasa potencia del epilimnion se explica porque la laguna está muy protegida del viento.

### Laguna de Vila

En este caso la estratificación estival llega hasta los 6,5 m de profundidad (figura 3.14). Presenta la particularidad de carecer de inversión térmica al contrario de lo que ocurre en Banyoles III. Esto podría ser debido a la escasa profundidad de la laguna, lo que impide un aislamiento térmico del monimolimnion. La temperatura máxima durante el periodo estudiado fue de 29,2°C, en julio de 1978 en superficie, y la mínima de 6°C, en febrero de 1979. El máximo gradiente térmico en la quemoclina fue de 3°C/m en agosto de 1979.

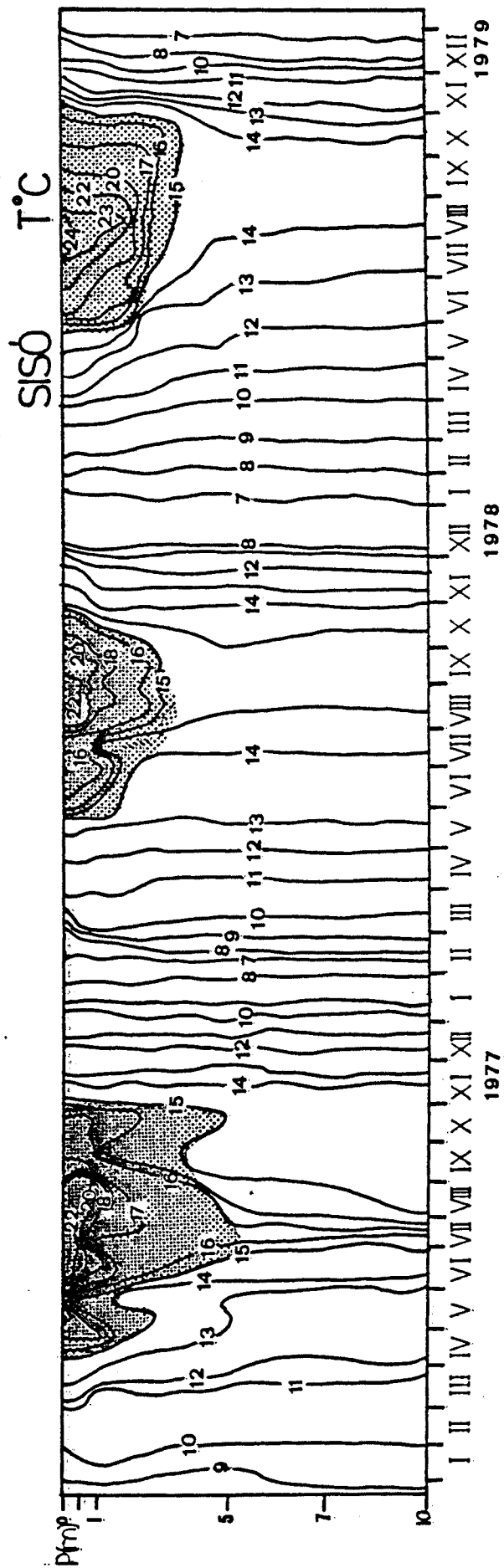


Figura 3.13 Distribución vertical y estacional de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en la laguna de Sisó (enero 1977 - diciembre 1979). La zona punteada señala al epilimnion y a la termoclina.

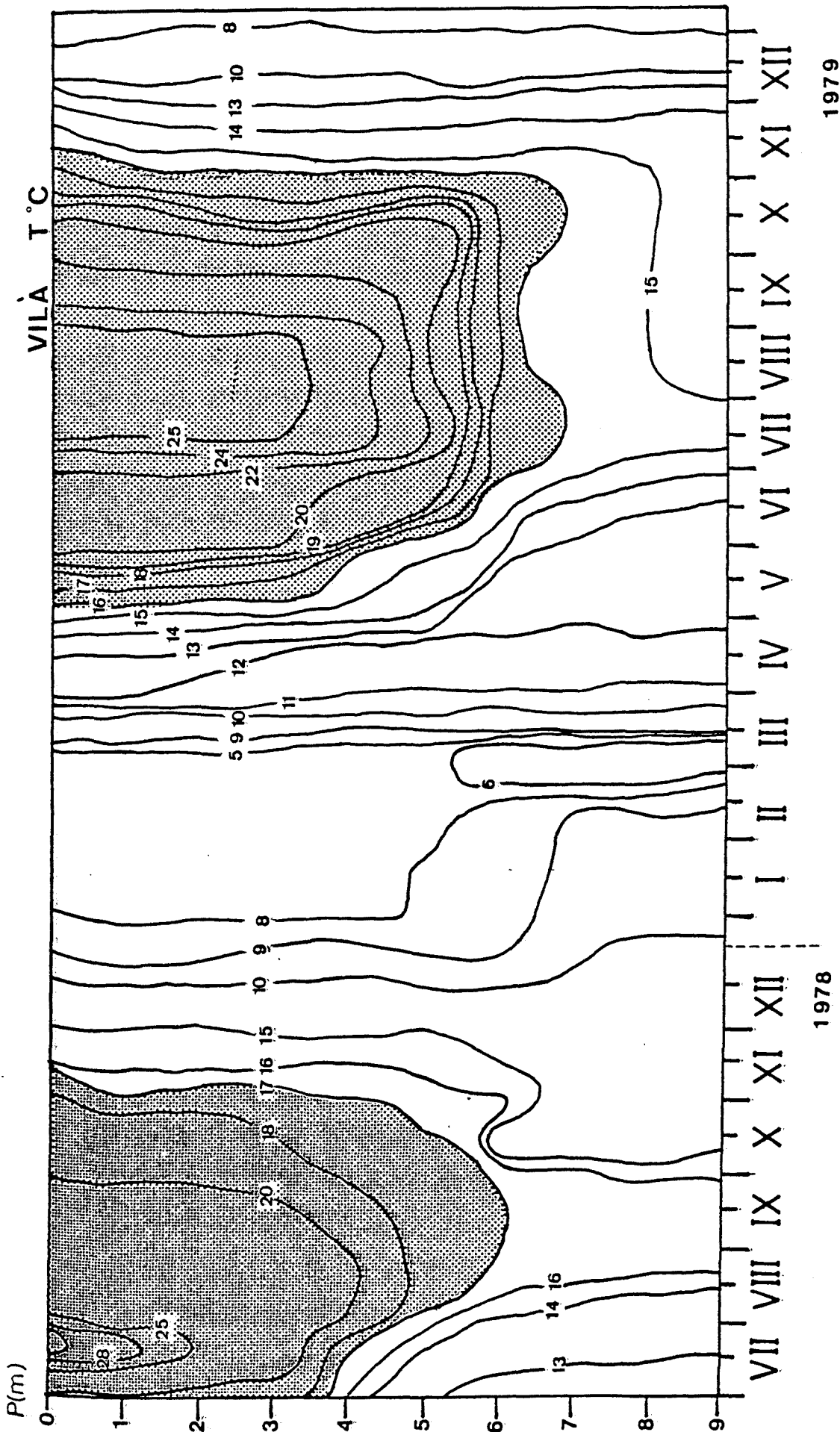


Figura 3.14 Distribución vertical y estacional de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en la laguna de Vilà (julio 1978 - diciembre 1979). La zona punteada señala al epilimnion y a la termoclina.

También en este caso, aunque en esta figura no se indica, a partir de los 9 m existe una capa de lodo en la chimenea central (de ambas cubetas) con una temperatura media de 15-20°C.

### Laguna de Coromines

En la figura 3.15 se observa un largo periodo de estratificación, que se inicia en abril-mayo y finaliza en octubre-noviembre. La termoclina llega hasta los 3 m y es muy pronunciada, entre 26°C a 0 m y 14°C a los 3 m, o sea 4°C/m. Se aprecia un calentamiento errático en enero de 1979 cerca de la superficie. La temperatura máxima fue de 26,1°C, en julio, y la mínima de 4,1°C, en diciembre.

### Laguna Negre 1

Su comportamiento (figura 3.16), es parecido al de la anterior, y corresponde también al de una laguna monomítica templada, con temperaturas máximas de 22,8°C en julio en superficie, y mínimas de 4°C en diciembre de 1978. También en este caso se presenta un calentamiento errático del agua superficial durante enero de 1979. El periodo de estratificación es empero, más corto y comprende desde finales de mayo hasta principios de octubre. Esto puede explicarse debido a que esta laguna ocupa un hundimiento del terreno con pendientes muy pronunciadas y densa vegetación arbórea, lo cual disminuye la penetración de la luz solar.

### 3.2.2 Distribución del pH

#### Banyoles III

La distribución del pH en Banyoles III a lo largo del tiempo presenta una serie de características interesantes desde el punto de vista de la limnología dinámica. En la figura 3.17 se observa

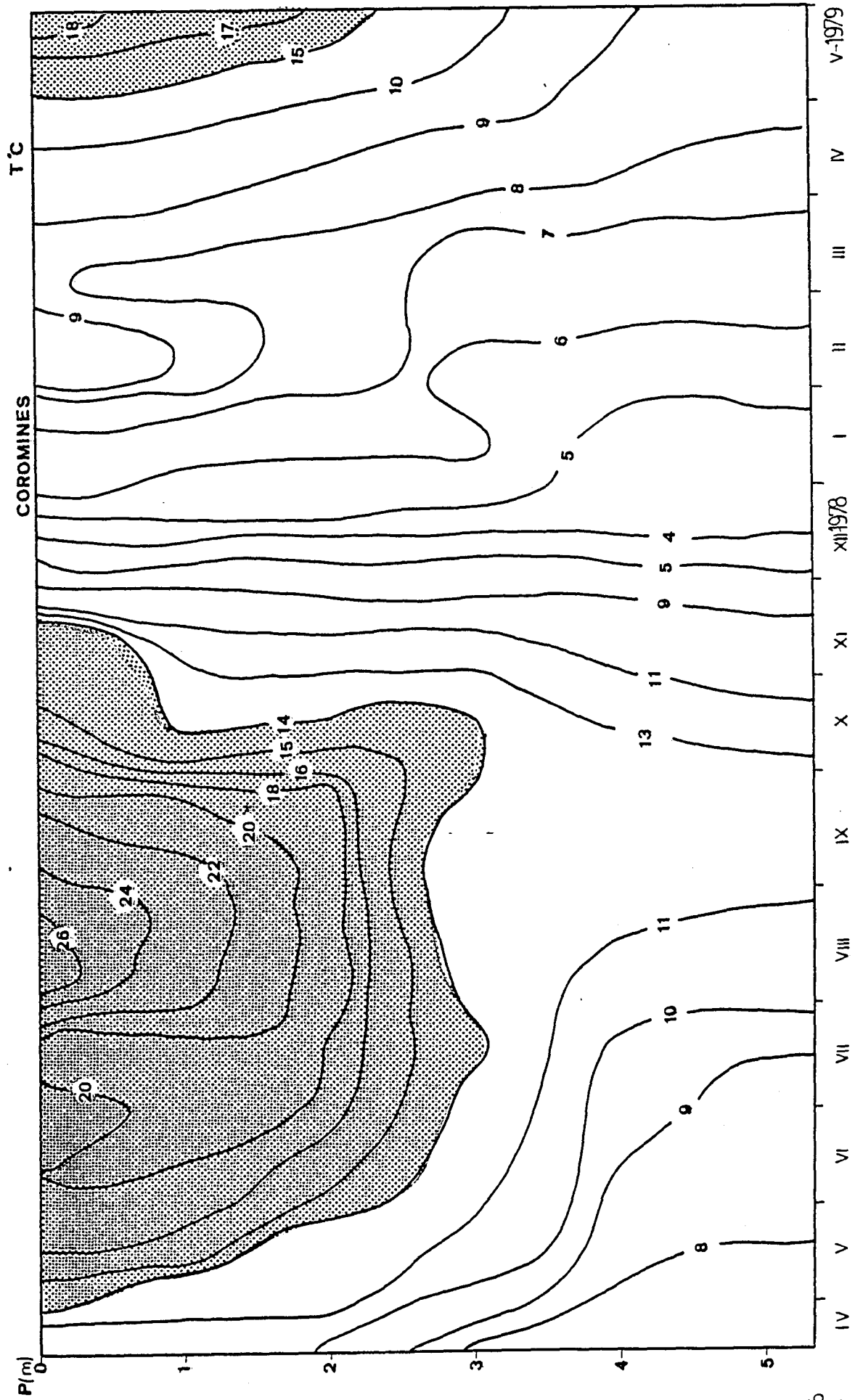


Figura 3.15 Distribución vertical y estacional de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en la laguna de Coromines (abril 1978 - mayo 1979). La zona punteada señala al epilimnion y a la termoclina.



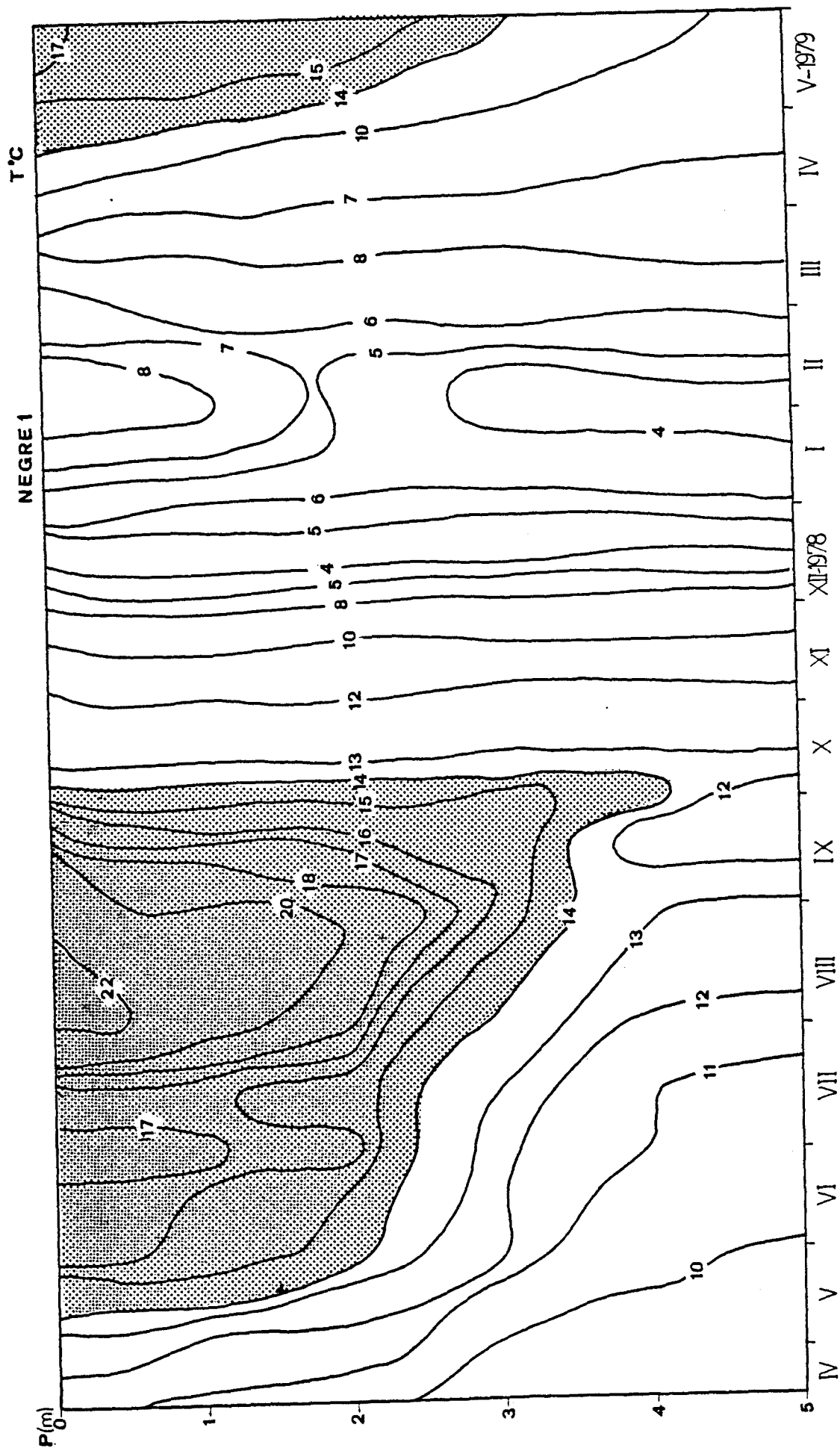


Figura 3.16 Distribución vertical y estacional de la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) en la laguna Negre 1 (abril 1978 - mayo 1979). La zona punteada corresponde al epilimnion y a la termoclina.

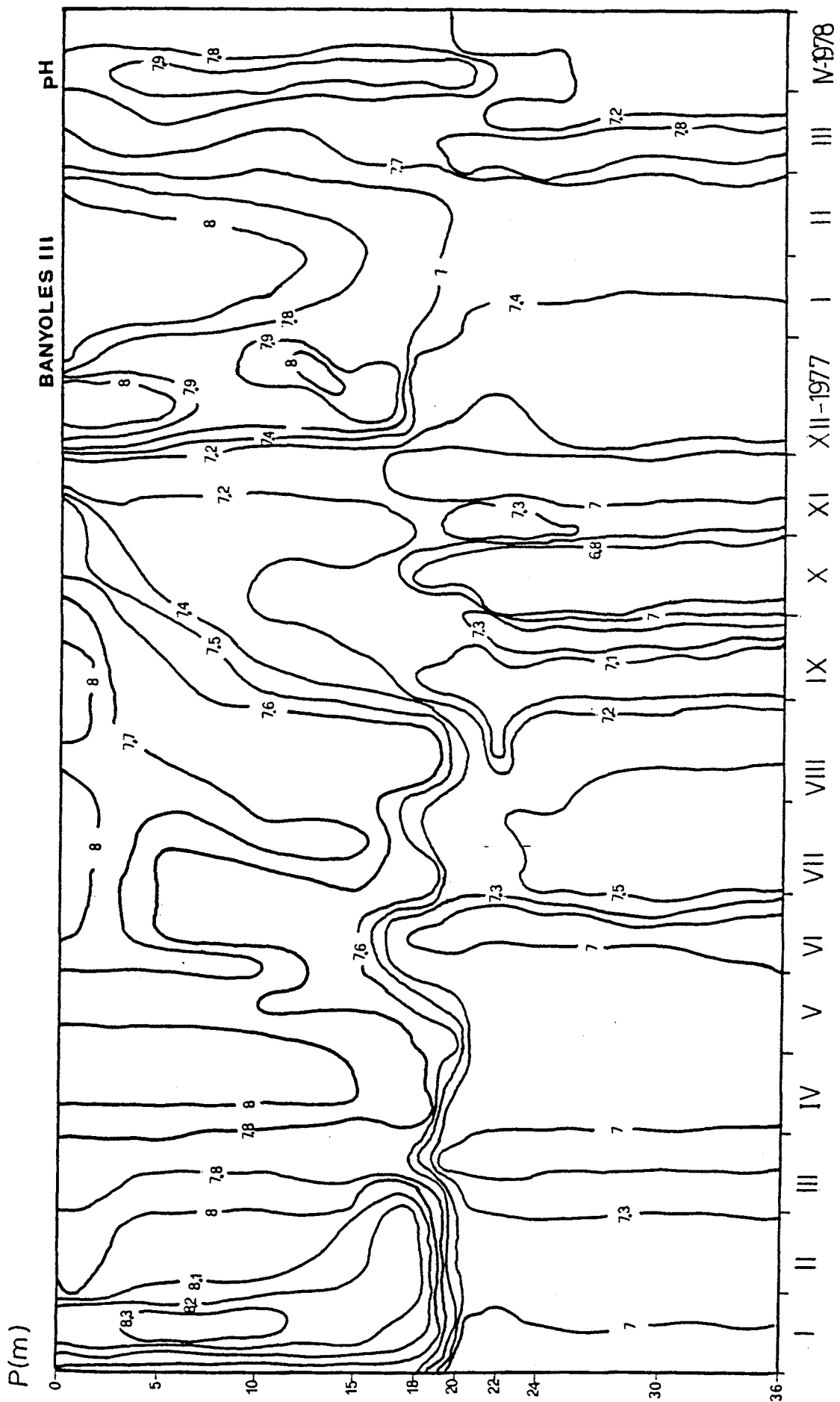


Figura 3.17 Distribución profundidad - tiempo de las isopletas del pH en Banyoles III (enero 1977 - abril 1978).

que la distribución del pH está estratificada en la quemoclina durante prácticamente todo el año, a excepción de finales de verano. Los valores del pH del mixolimnion son 0,5 unidades de pH superiores a la del monimolimnion. Este hecho se relaciona con la presencia en profundidad de un ácido débil como es el sulfhídrico. Aunque el valor de 0,5 unidades de diferencia no parezca elevado, hay que tener en cuenta que son aguas con elevada reserva alcalina y gran capacidad tamponante. La distribución dentro del mixolimnion y del monimolimnion, donde a su vez presenta una ligera estratificación con variaciones de 0,4 unidades desde la superficie hasta los 17 m.

Durante el periodo comprendido entre los meses de septiembre y diciembre, las isolíneas de pH ascienden hacia la superficie, indicando el movimiento de la termoclina hacia abajo y el contacto de las aguas hipolimnéticas con las de la superficie durante la fase inicial de mezcla.

#### Laguna de Sisó

En esta laguna el pH prácticamente no presenta variación vertical (figura 3.18) siendo por término medio ligeramente más ácido que Banyoles III, debido, en parte, a la mayor concentración de sulfhídrico en el agua de Sisó..

El pH máximo (pH=8) se presentó en el verano de ambos años. Los valores mínimos también se presentaron durante el verano a partir de 1 m de profundidad. Antes del proceso de mezcla vertical, en octubre y noviembre, se detectaron valores ligeramente ácidos (pH = 6,8) en toda la columna de agua.

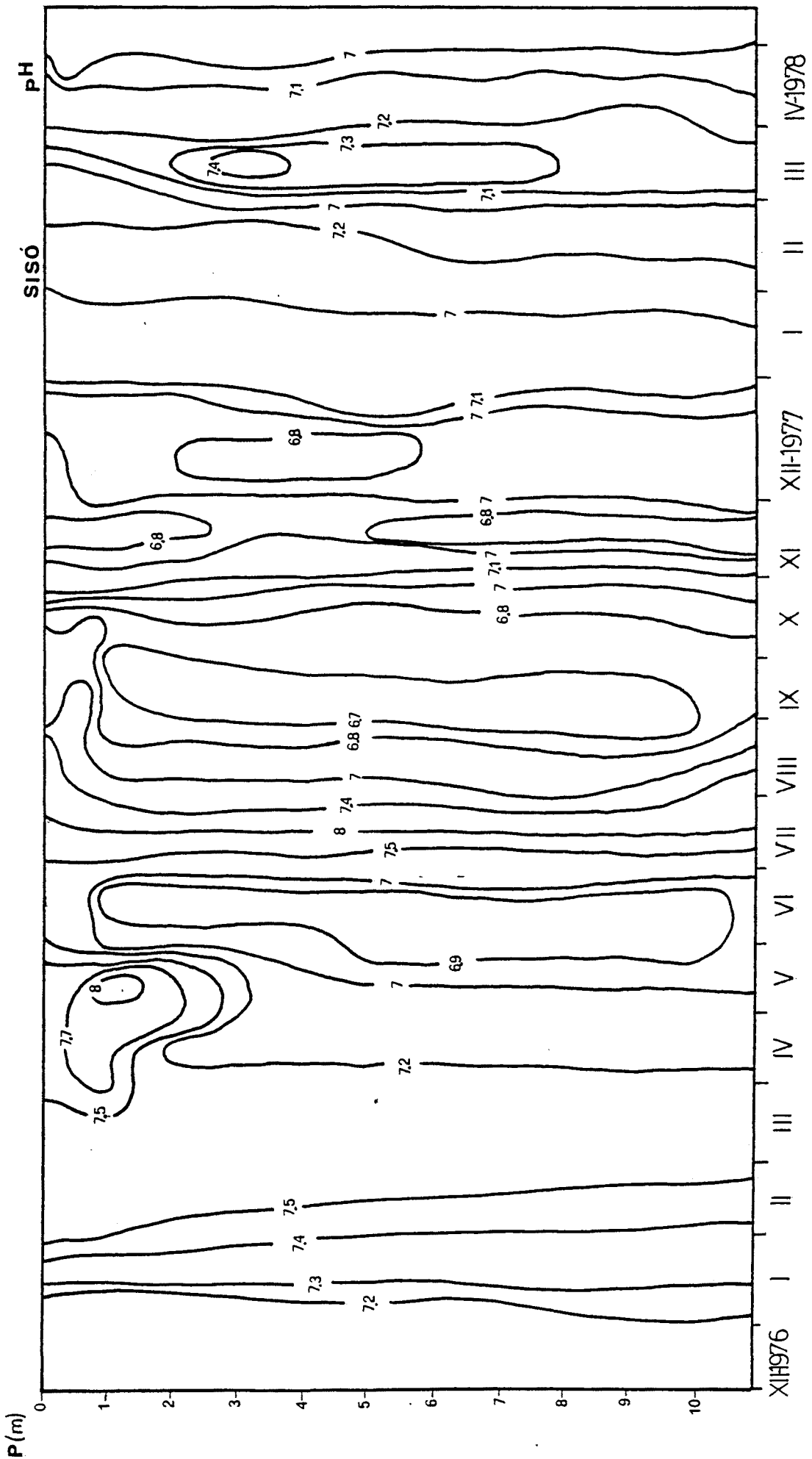


Figura 3.18 Distribución profundidad- tiempo de las isopletas del pH en la laguna de Sisó (diciembre 1976 - abril 1978).

### Laguna de Vilà

La distribución estacional del pH en la columna de agua de Vilà se presenta en la figura 3.19. Los valores del pH siguen la misma tónica que en los ejemplos anteriores, ligeramente más ácidos en el fondo que en superficie. El cambio aparente se presenta a nivel de la quemoclina, donde también se acidifica por la presencia de sulfhídrico. Durante el otoño, la distribución del pH es casi columnar, hecho que coincide con todos los procesos ligados a los momentos anteriores a la mezcla vertical, es decir, en este caso relacionado con el descenso de aguas más profundas hasta cerca de la superficie, y descenso del oxígeno hasta 2 mg/l a 1 m.

### Lagunas de Coromines y Negre 1

Ambas lagunas tienen, por lo general, un pH más alcalino que las lagunas cercanas a Banyoles. En ambas lagunas el pH del fondo es ligeramente más ácido que en superficie. En Coromines, el pH oscila entre 9 en superficie y 7,8 en profundidad. En Negre 1 la variación es algo menor, de 8,5 hasta 8 en profundidad (figura 3.20).

En general, las aguas de ambos sistemas lacustres, Banyoles y Sant Miquel de Campmajor, presentan valores de pH alcalinos, siendo superiores en los del último (Coromines y Negre 1). En todos ellos se detecta una ligera acidificación en profundidad causada por la presencia de un ácido débil como el sulfhídrico.

#### 3.2.3 Potencial de óxido-reducción de la columna de agua, del sedimento y del lodo en suspensión

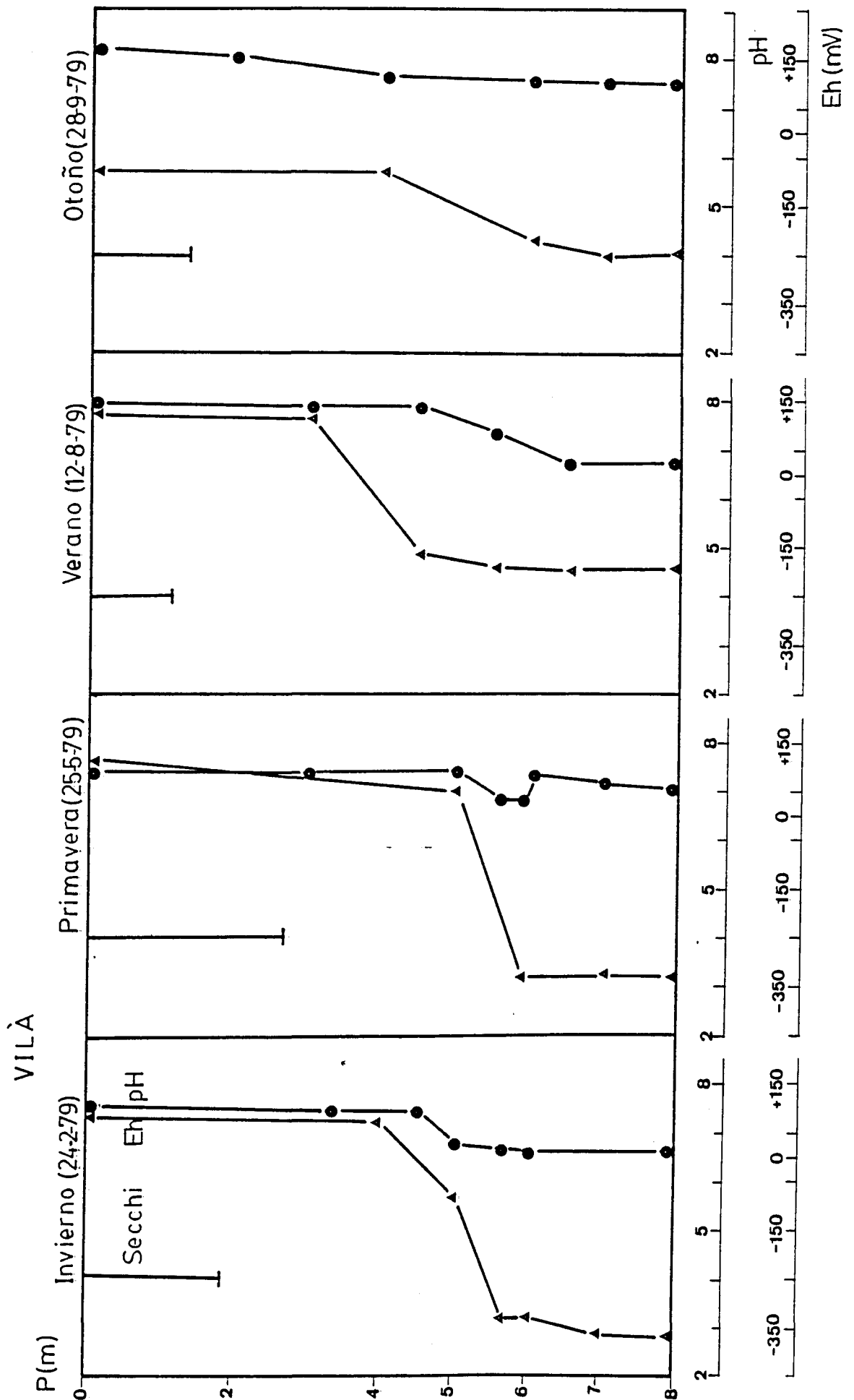


Figura 3.19 Perfil vertical de la distribución de los valores del disco de Secchi, potencial redox (mV) y pH en cuatro momentos del ciclo anual en la laguna de Vilà.

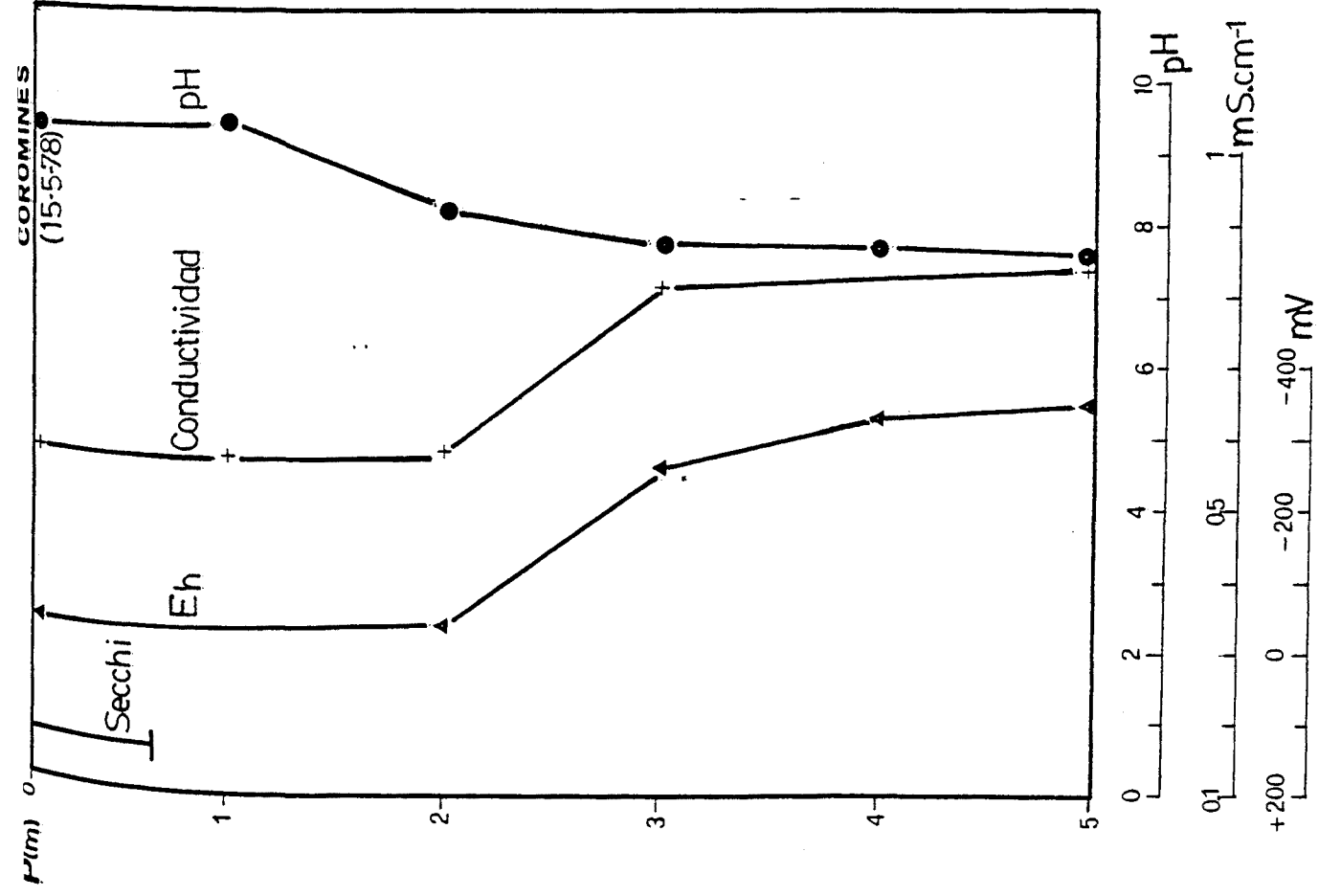
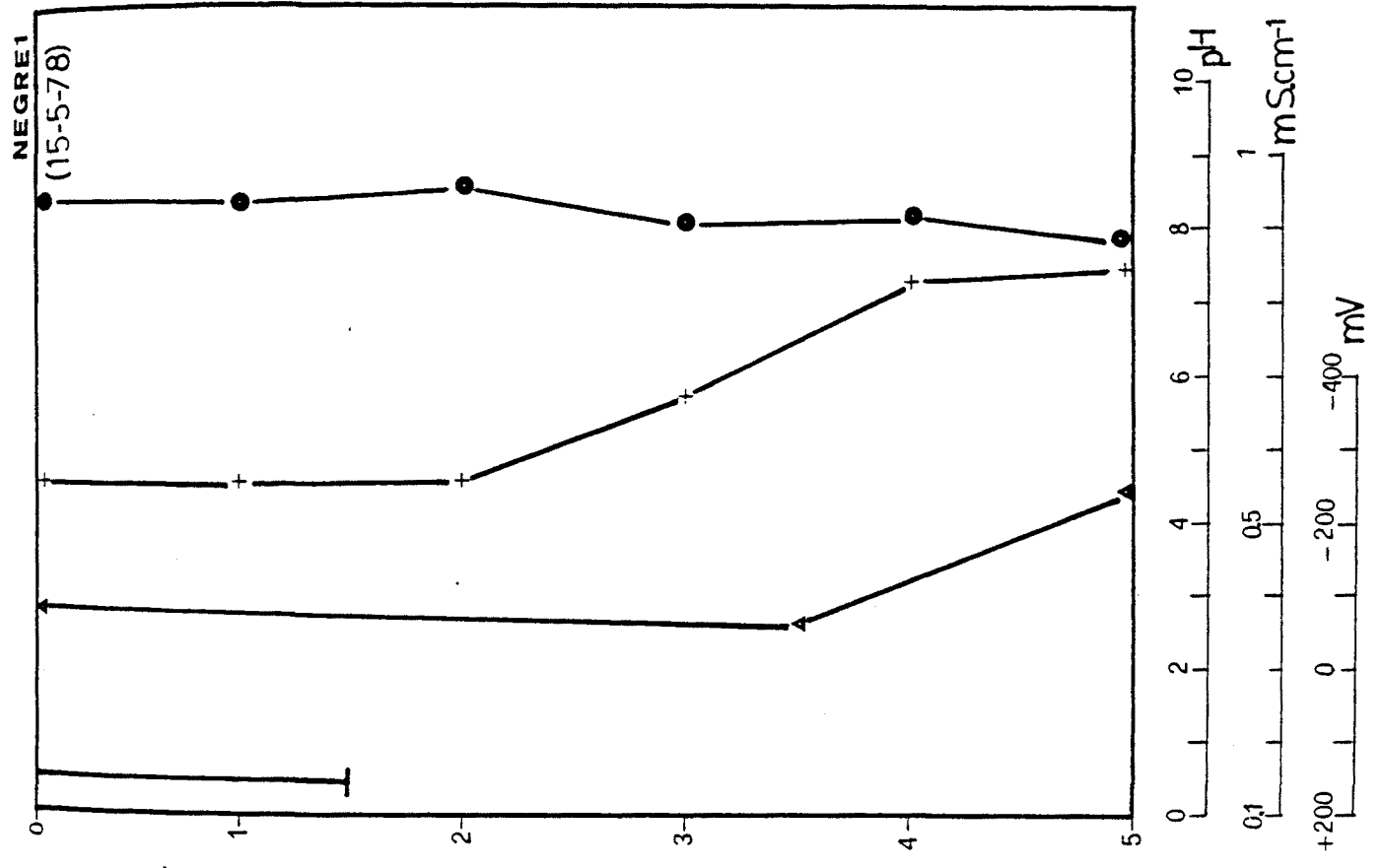


Figura 3.20 Perfil vertical de la distribución de los valores del disco de Secchi (m), potencial redox (mV), conductividad (mS/cm) y pH en las lagunas de Coromines y Negre 1 (15.7.78).

### A. Potencial redox de la columna de agua

En la tabla 3.3a se detalla la distribución del potencial redox y del pH en los diferentes niveles de la columna de agua de Banyoles III en un día de muestreo (29.7.78). Los valores del potencial redox del mixolimnion oscilan en esta fecha entre +250 y + 275 mV. Los valores del minomolimnion varían bruscamente a partir de la quemoclina hasta alcanzar mínimos de -110 mV, correlacionados con la presencia de sulfhídrico en esta capa anóxica. El pH disminuye ligeramente hacia el monimolimnion, tal como se ha mencionado anteriormente (véase la figura 3.17, en el apartado 3.2.2).

En la laguna de Sisó (tabla 3.3b) se comparan los valores de los potenciales redox durante dos periodos diferenciados correspondientes al de estratificación y al de holomixis. Durante el periodo de estratificación de verano, con oxígeno en superficie, se detectan potenciales positivos en la capa superior, que se tornan claramente negativos al desaparecer el oxígeno a partir de la termoclina a 1,75 m. El resto de la columna de agua presenta unos potenciales redox fuertemente negativos, alrededor de -300 mV, con mínimos de -320 mV en el fondo. Durante el periodo de holomixis, el sulfhídrico llega hasta la superficie, y toda la columna de agua es claramente anaerobia, con potenciales entre -300 y -320 mV.

En la figura 3.19 (véase el apartado 3.2.2) se comparan los valores del potencial redox de la columna de agua de la laguna de Vilà a lo largo de cuatro estaciones del año. También en este caso, por ser una laguna meromíctica, se aprecian los cambios bruscos de valores de redox en la quemoclina, la cual varía en posición, situándose más cerca de la superficie durante el verano.



Tabla 3.3a Potenciales de óxido-reducción de la columna de agua de Banyoles III (29.7.78).

P (m)	Potencial redox (mV)	pH
0	+275	8,0
10	+275	7,7
15	+250	7,7
18	+200	7,5
20*	-80	7,4
22	-110	7,4
24	-110	7,5
25**	+115	7,5

\* La quemoclina se encuentra a los 19 m.

\*\* Nivel en que se encuentran las margas en suspensión (lodo).

Tabla 3.3b Potenciales de óxido-reducción de la columna de agua de la laguna de Sisó durante la estratificación (15 de junio de 1979) y la holomixis (15 de febrero de 1979).

P(m)	Potencial redox (mV)	
	Estratificación (15.6.79)	Holomixis (15.2.79)
0	+130	-300
0,2	+120	-300
0,5	+50	-300
1	-200	-300
1,75	-230	-300
3	-290	-300
5	-310	-320
7	-320	-320
10	-310	-320



En otoño se aprecia una cierta uniformidad del potencial redox del mixolimnion, ya que incluso en superficie se detectan valores ligeramente negativos causados por la disminución del contenido en oxígeno.

La distribución vertical de los valores del potencial redox de las lagunas de Coromines y Negre 1 se aprecia en la figura 3.20 (apartado 3.2.2). En las aguas superficiales de ambos lagos se detectan normalmente potenciales redox ligeramente electronegativos, entre  $-30$  y  $-80$  mV, que aumentan rápidamente en profundidad ( $-340$  mV), debido a la presencia de sulfhídrico y a las condiciones anóxicas. La existencia de potenciales negativos incluso en superficie se relaciona con el elevado nivel de eutrofia que poseen ambas lagunas, con abundante materia orgánica en sus aguas. Tan sólo durante el invierno, con holomixis, el potencial redox es positivo en superficie, desde  $+260$  mV hasta los  $+190$  mV a los 3 m de profundidad. A partir de este nivel los valores disminuyen de nuevo hasta  $-150$  mV cerca del fondo. De nuevo, a principios de primavera los valores son los similares a los del resto del año, con valores superficiales ligeramente negativos.

#### B. Potencial redox del sedimento compacto

El sedimento compacto de toda la superficie del fondo de las masas de agua estudiadas es en todos los casos fuertemente anaerobio y de color negro oscuro, indicando la presencia de precipitados insolubles de sulfuros de hierro (Frevort 1979). Debe distinguirse este sedimento de los materiales en suspensión (margas en disolución o lodo) situados en el centro de las cubetas de Banyoles y Vilà (véase el apartado 3.1.2), los cuales tienen menor densidad y son ligeramente aerobios.

En la tabla 3.4 se indican los valores numéricos del potencial redox a diferentes niveles (en cm) del sedimento compacto del fondo de las masas de agua estudiadas. Una característica general es su clara electronegatividad, muy pronunciada en Banyoles III y Vilà (meromícticos), con valores de -400 mV y -350 mV. También el sedimento de Sisó es fuertemente electronegativo, aunque en este caso claramente en los primeros centímetros. Las lagunas de Coromines y Negre 1 no alcanzan los valores máximos de los anteriores, aunque también son negativos, indicando en todos ellos la predominancia de los procesos de reducción.

El potencial redox del sedimento es un buen indicador de la existencia de producción activa de sulfhídrico, en este caso principalmente por reducción de sulfatos, que determinan la permanencia en mayor o menor grado de aguas anaerobias en todas estas lagunas.

Por lo tanto, (tabla 3.4) se presentan tres distribuciones respecto al potencial redox en los sedimentos estudiados: en Banyoles III y Vilà el valor más electronegativo se sitúa a partir de cierta profundidad, 10-12 cm; el sedimento de la laguna anaerobia de Sisó tiene el potencial redox más electronegativo en superficie y la de Coromines y Negre 1 no presentan mínimos claros sino que tienen una distribución uniforme de potencial redox.

En la misma tabla se indican también los valores de pH en los distintos niveles del sedimento. Puede observarse una ligera acidez en Banyoles III y Coromines, siendo el resto de sedimento de las demás masas de agua prácticamente neutro.

### C. Potencial redox del lodo en suspensión

En la tabla 3.5 se presentan las características de potencial

Tabla 3.4 Distribución de los potenciales de óxido-reducción y pH del sedimento compacto anaerobio de las distintas lagunas estudiadas.

	P (cm)	Potencial redox (mV)	pH
Banyoles III (29.6.79)	0	-300	6,8
	2	-320	6,8
	4	-330	6,8
	6	-350	6,7
	8	-360	6,6
	10	-370	6,5
	12	-380	6,5
	14	-380	6,5
	16	-390	6,4
	18	-390	6,4
	20	-400	6,3
	25	-400	6,4
	30	-400	6,3
	35	-400	6,4
40	-400	6,4	
Sisó (24.2.79)	0	-370	7,0
	1	-400	7,0
	2	-290	7,2
	3	-290	7,0
	4	-230	7,0
	5	-210	7,0
	6	-190	7,0
	7	-180	7,0
	8	-160	7,0
	9	-160	7,0

Tabla 3.4 (Continuación)

Vila (27.1.79)	3	-250	7,2
	5	-345	7,1
	7	-340	7,1
	9	-350	7,1
	12	-380	7,1
	15	-360	7,1
	17	-350	7,1
	22	-200	7,1
Coromines (16.7.79)	4	-140	6,6
	10	-125	6,6
	16	-140	6,6
	21	-140	6,7
	26	-85	6,7
	32	-85	6,6
	38	-80	6,7
	45	-85	6,7
	52	-60	6,7
Negre 1 (28.4.79)	1	-180	7,3
	3	-300	7,3
	5	-300	7,3
	7	-320	7,3
	10	-320	7,3
	12	-300	7,0
	15	-320	7,0
	18	-280	7,0
	20	-280	6,9
	22	-260	6,8
	25	-260	6,8

Tabla 3.5 Potencial de óxido-reducción y pH del lodo en  
suspensión de las cubetas de Banyoles y Vilà (31.7.78)

Cubeta	P (m)	Potencial redox (mV)	pH
Banyoles I	27	+25	7,3
Banyoles II	27	+125	7,1
Banyoles III	26	+10	7,0
Banyoles IV	30	+110	7,2
Banyoles V	10	-90	7,1
Vilà I	18	+100	7,1
Vilà II	18	+60	7,0

redox y pH de las margas en suspensión (lodo) que ocupa la parte central de las cubetas de Banyoles y Vilà. Los valores del potencial redox oscilan entre -90 y +125 mV, aunque la mayor parte del tiempo son positivos, indicando con ello la entrada de agua freática con oxígeno por el fondo de las cubetas. Posiblemente los valores más positivos estén relacionados con un mayor flujo de agua freática ascendente.

Los valores de pH del lodo se mantienen dentro de la neutralidad, entre 7,0 y 7,3.

#### 3.2.4 Densidad de las muestras de agua

La densidad de la columna de agua de las dos cubetas meromícticas, Banyoles III y Vilà se analizó mediante la evaporación a 110°C de 250 ml de agua filtrada a través de membranas de 0,45  $\mu\text{m}$  de poro, con el fin de calcular el contenido en sólidos totales disueltos (véase el apartado 2.5.5). En el caso de las muestras de lodo (margas en suspensión), se pesaba un volumen conocido de muestra.

##### A. Densidad del agua

En la tabla 3.6 se aprecia la variación de la densidad en la columna de agua de Banyoles III y Vilà. En ambos casos se observa un aumento de la densidad a nivel de la quemoclina, con valores de 1,00179  $\text{g}/\text{cm}^3$  (a 18 m, Banyoles III) y de 1,00152  $\text{g}/\text{cm}^3$  (a 5 m, Vilà).

##### B. Densidad del lodo

En la tabla 3.7 se señalan las densidades del lodo de las diferentes cubetas de Banyoles y Vilà. La cubeta V de Banyoles es la que contiene el lodo más denso, (1,550  $\text{g}/\text{cm}^3$ ) y la cubeta I el de



Tabla 3.6 Densidad de la columna de agua de Banyoles III y y Vilà. (Muestras del 29.7.78).

Banyoles III		Vilà	
P(m)	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	P(m)	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
0	1,00100	0	1,00137
10	1,00102	2	1,00126
15	1,00104	4	1,00117
18	1,00179	5	1,00152
20	1,00195	6	1,00232
22	1,00196	9*	1,31900
24	1,00274		
25*	1,21000		

\*Nivel en que se encuentran las margas en suspensión (lodo).

Tabla 3.7 Densidad del lodo (margas en suspensión) de las distintas cubetas de Banyoles y Vilà. (Muestras del 31.8.78).

---

Cubeta	P(m)	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
Banyoles I	27	1,103
Banyoles II	27	1,306
Banyoles III	26	1,210
Banyoles IV	30	1,168
Banyoles V	10	1,550
Vilà I	18	1,320
Vilà II	10	1,319

---

menor densidad ( $1,103 \text{ g/cm}^3$ ). En conjunto, se puede deducir que es necesario un flujo de agua por el fondo para permitir la existencia de este lodo en suspensión permanente.

Las dos cubetas del Vilà contienen lodos de parecida densidad ( $1,3 \text{ g/cm}^3$ ).

### 3.2.5 Conductividad

La conductividad fue medida quincenalmente durante dos años sucesivos en la columna de agua de Banyoles III y Sisó mediante el método descrito en el apartado 2.5.4. En el resto de las lagunas sólo se ha analizado en algunas épocas del año.

#### Banyoles III

Tal como se ha comentado anteriormente (apartado 3.2.1) al tratar la temperatura de las masas de agua, también la conductividad es un buen parámetro para separar las tres capas (mixolimnion, monimolimnion y lodo) en que se divide la columna de agua de Banyoles III y de Vilà. Dado que la conductividad es un parámetro que refleja la cantidad de sales disueltas en el agua, los cambios bruscos en este parámetro implican la existencia de una quemoclina en la columna de agua. En la figura 3.21 se representa la variación de la conductividad en función de la profundidad y a lo largo del tiempo en la cubeta III del lago de Banyoles. El mixolimnion tiene una conductividad relativamente elevada (respecto al agua de lluvia que es de unos  $50 \mu\text{S/cm}$ ) y oscila entre  $1,20$  y  $1,33 \text{ mS/cm}$  con escasas variaciones anuales. A partir de la isolínea de  $1,40 \text{ mS/cm}$  se observa, a lo largo del tiempo, una mayor estratificación, con un cambio de  $1,4$  a  $2,2 \text{ mS/cm}$  en  $1,5 \text{ m}$  de espesor. Al llegar al lodo se presenta un segundo salto brusco, desde  $2,2$  a  $2,4 \text{ mS/cm}$ .

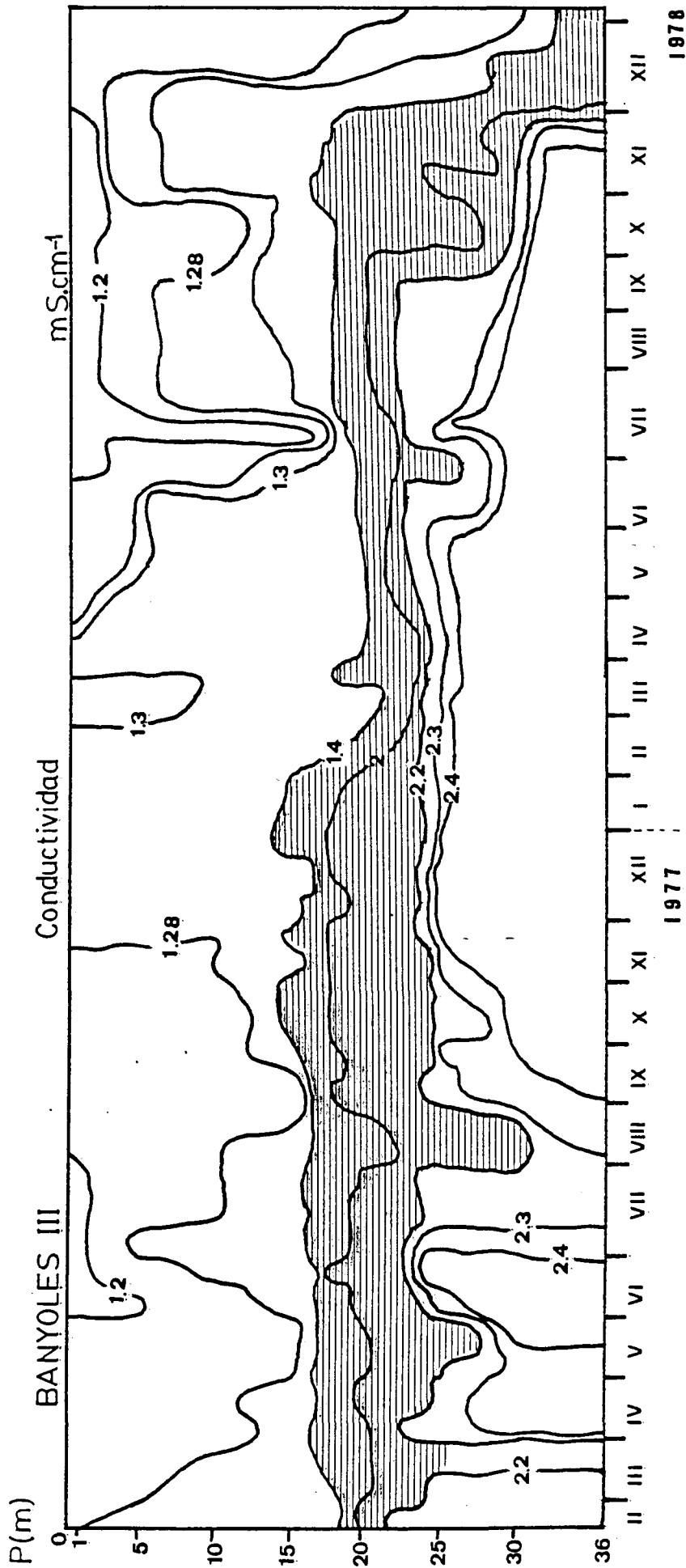


Figura 3.21 Diagrama profundidad-tiempo de los valores estacionales de la conductividad (mS/cm) en Banyoles III (febrero 1977 - diciembre 1978).

Al finalizar el año 1978, todas las isolíneas de la conductividad descienden hacia el fondo debido al proceso de mezcla vertical temporal que se presentó entre los meses de diciembre 1978 y marzo 1979. Esta mezcla ocurre muy raramente en Banyoles III, pudiendo transcurrir varios años con una quemoclina estable. Posteriormente, en el mes de marzo de 1979, se recuperó la posición de la quemoclina y la meromixis, por lo que los valores de la conductividad pasaron a ser similares a los del año anterior.

Por último, dentro de la columna de lodo, la conductividad sufre pocos cambios, con valores comprendidos entre 2,3 y 2,4 mS/cm.

#### Laguna de Sisó

La conductividad en la laguna de Sisó se observó alta y prácticamente uniforme a lo largo de los dos años estudiados. Por consiguiente, no existe prácticamente estratificación en cuanto a la conductividad, ni fuertes variaciones estacionales. Los valores máximos fueron de 2,20 y los mínimos de 1,84 mS/cm (figura 3.22). Tan sólo durante la primera quincena de julio de 1977 se apreció un ligero descenso de la conductividad del conjunto de la columna, llegando hasta 1,93 mS/cm.

Durante los meses de verano de los dos años estudiados fue posible detectar una ligera estratificación en presencia de la termoclina, ya que la conductividad era ligeramente inferior en las aguas del epilimnion, aislado del resto de la columna de agua.

#### Laguna de Vilà

En la laguna de Vilà (figura 3.23) se observa también una alta conductividad en el mixolimnion (1,10 a 1,35 mS/cm), que aumenta

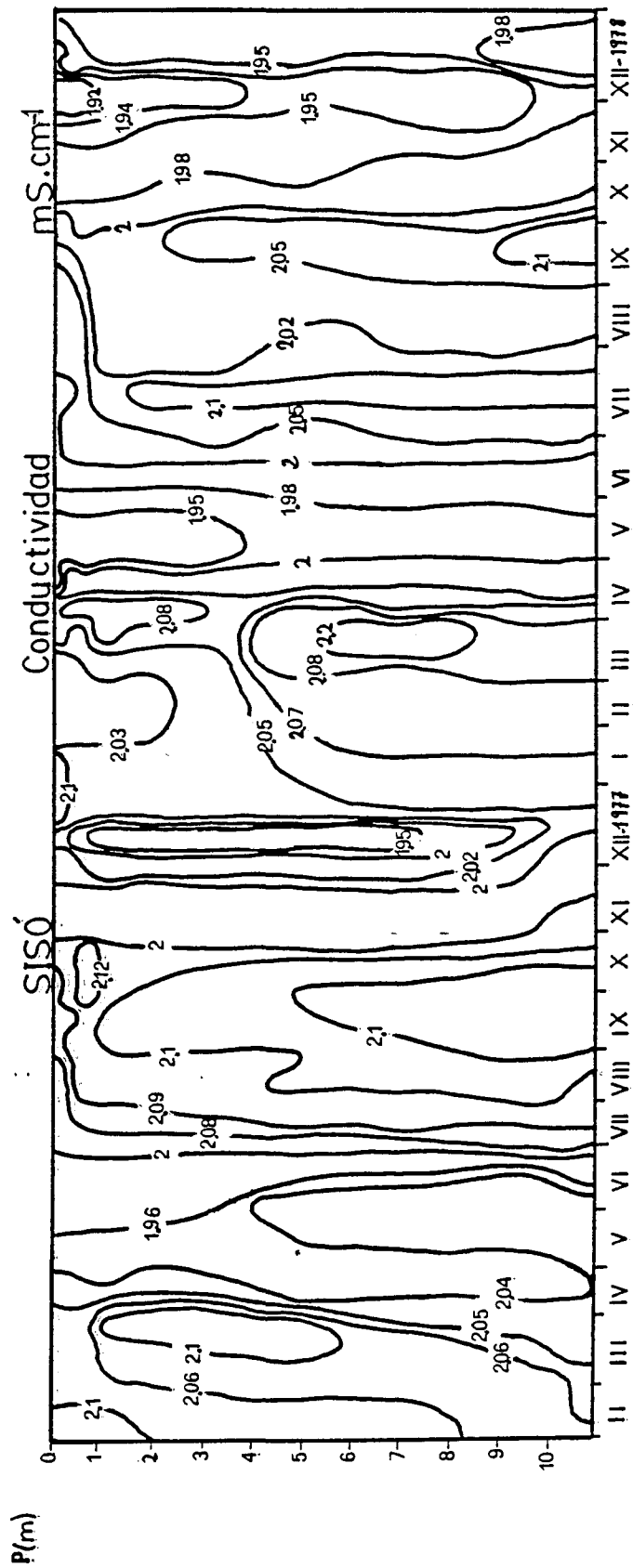


Figura 3.22 Diagrama profundidad-tiempo de los valores estacionales de la conductividad (mS/cm) en la laguna de Sisó (febrero 1977 - diciembre 1978).

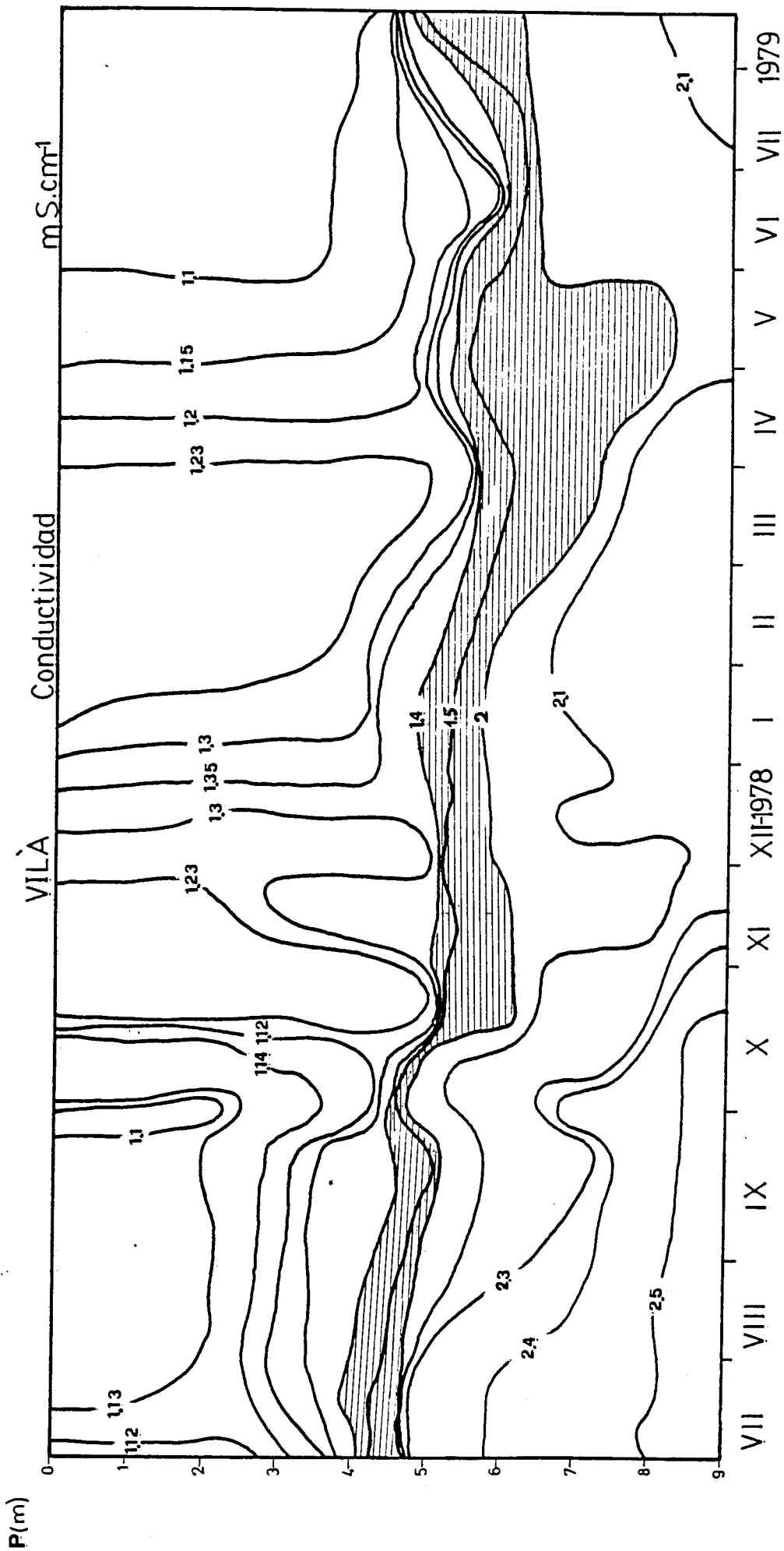


Figura 3.23 Diagrama profundidad-tiempo de los valores estacionales de la conductividad (mS/cm) en la laguna de Vilà (julio 1978 - julio 1979).

bruscamente a nivel de la quemoclina (a los 4-5 m), hasta 2,10 mS/cm, y un segundo incremento (2,5 mS/cm) más suave hacia el fondo cerca del sedimento en suspensión.

La presencia de la quemoclina se detecta en esta figura con toda claridad, observándose que las isolíneas se disponen horizontales y paralelas, lo que significa un rápido aumento de la conductividad y la existencia de una meromixis permanente a lo largo del año.

La conductividad del lodo (no representada en la figura) es algo superior a la del agua, variando entre 2,6 y 2,8 mS/cm y resultando prácticamente uniforme en los distintos niveles de muestreo del mismo.

#### Lagunas de Coromines y Negre 1

Las lagunas de Coromines y Negre 1 tienen un menor grado de mineralización de sus aguas, lo cual se refleja en la conductividad más baja de las mismas. En la figura 3.20 (véase el apartado 3.2.2) se detallan las variaciones de conductividad a lo largo de un perfil vertical. En general, la conductividad en estas dos lagunas es inferior a las otras estudiadas. Los máximos se alcanzan en el fondo, cerca del sedimento con 0,78 mS/cm a los 5 m en Coromines y 0,80 mS/cm, también a los 5 m en Negre 1.

A partir del estudio de la conductividad, las masas de agua estudiadas se pueden separar en dos grandes grupos, el primero con aguas fuertemente mineralizadas (por encima de 1,0 mS/cm), al que pertenecen todas las de la zona de Banyoles (Banyoles III, Sisó y Vilà) y el segundo con aguas medianamente mineralizadas (por debajo de 0,80 mS/cm), al que corresponden las lagunas de Coromines y Negre 1. Este hecho corrobora el distinto origen de



las aguas, freático en el primer caso y de escorrentía pluvial en el segundo.

### 3.2.6 Transparencia con el disco de Secchi

La transparencia en Banyoles III fue medida utilizando un disco de Secchi blanco de 30 cm de diámetro. En general, se observa que la transparencia de estas aguas es relativamente baja, lo que indica una cierta turbiedad de sus aguas (figura 3.24a). La máxima profundidad (4,75 m) del disco se alcanzó en mayo de 1978 y la mínima (0,60m) en mayo de 1977, esta última debido a la turbiedad causada por las fuertes lluvias registradas en ese periodo.

En la laguna de Sisó (figura 3.24b) la transparencia es muy inferior a la de Banyoles III, presentándose los máximos de transparencia durante los meses con oxígeno en la parte superior de la columna de agua (marzo-mayo 1977 y agosto-septiembre 1978), alcanzándose un máximo de 2,4 m el 7.5.77. El resto del año la transparencia fue muy baja, no observándose el disco de Secchi después de 0,5 m de profundidad. En ocasiones, debido a la espesa capa de azufre coloidal presente en superficie, el disco de Secchi deja de observarse en cuanto se introduce en el agua (octubre-noviembre 1978). En esta laguna el disco de Secchi no es representativo de las condiciones de iluminación y transparencia de las aguas de la laguna debido a su escasa penetración a causa de la turbiedad por las densas poblaciones microbianas. Por lo tanto, el disco de Secchi no es suficientemente sensible para el estudio de la penetración de la luz en esta laguna, y tan sólo sirve a modo de comparación entre distintas épocas del año, en las que el oxígeno está o no presente en superficie.

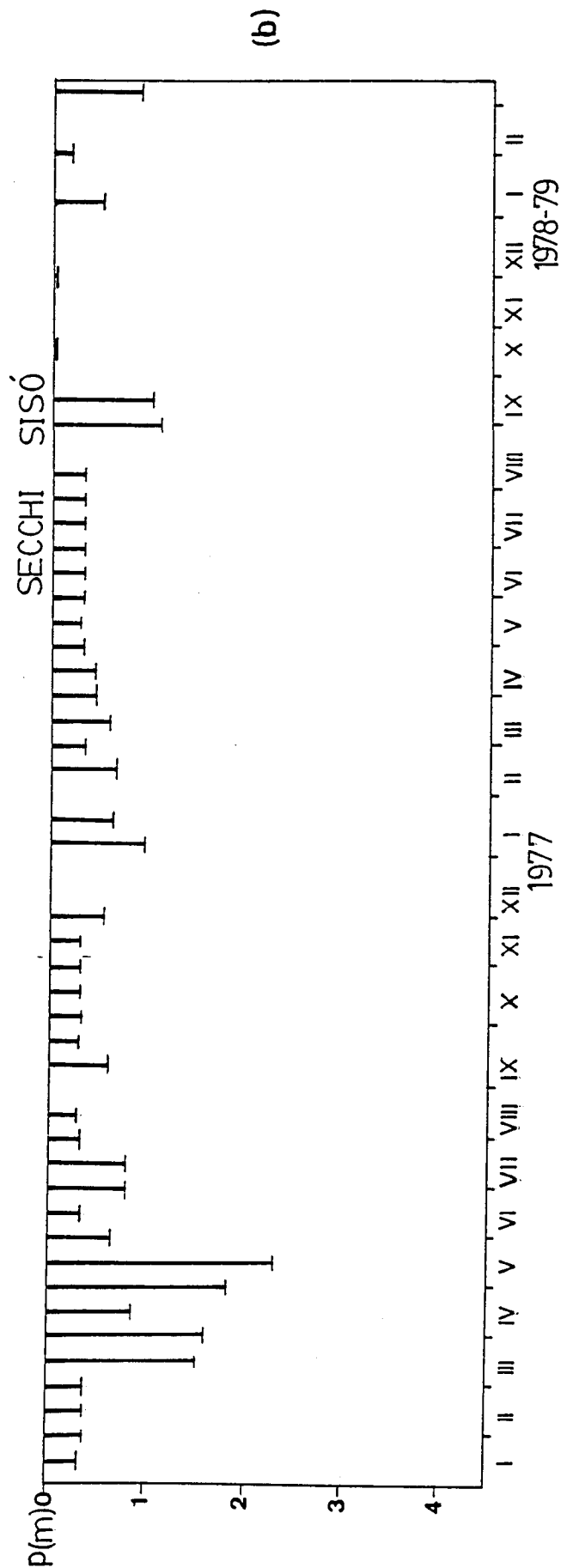
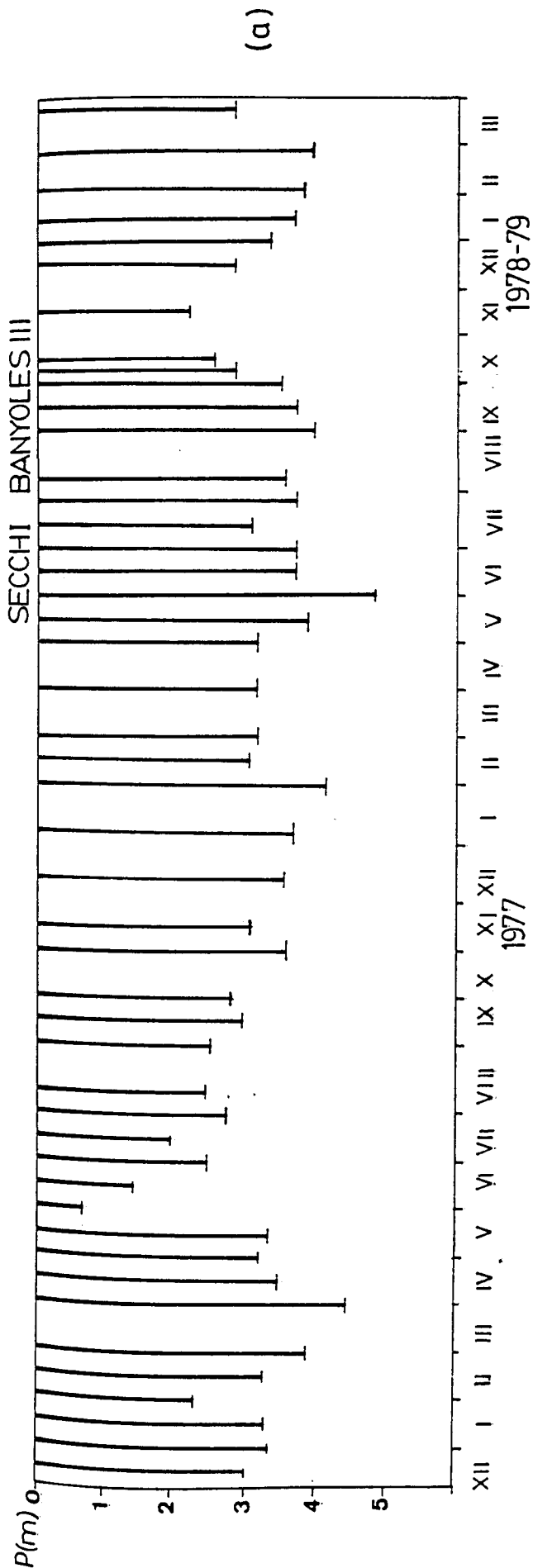


Figura 3.24 Variaciones anuales de la transparencia medida con disco de Secchi en (a) Banyoles III (diciembre 1977 - marzo 1979), y (b) en Sisó (enero 1977 - febrero 1979).

En la figura 3.19 (véase apartado 3.2.2) se señalan los valores del disco de Secchi en cuatro momentos del ciclo anual de la laguna de Vilà. Los valores máximos se detectan en primavera (2,3 m), y los mínimos en verano (1 m). Durante invierno y otoño se aprecian valores intermedios.

En conjunto los valores del disco de Secchi se corresponden con las características eutróficas de la laguna y aguas poco transparentes de color verdoso.

Finalmente, en la figura 3.20 (apartado 3.2.2) se dan dos ejemplos de la transparencia del agua en Coromines y Negre 1. Coromines tiene muy poca penetración de la luz, lo que indica su alto nivel de eutrofia, ya que el color de sus aguas es verde intenso con fuertes floraciones algales. Los valores medios del disco de Secchi son de 0,65 m. En la laguna Negre 1 la penetración del disco de Secchi es algo superior (1,5 m) aunque también bajo. Su mayor transparencia está en relación con un menor grado de eutrofia debido a una baja iluminación causada por el denso arbolado que la rodea.

### 3.2.7 Penetración de la luz

La penetración de la luz (definida como el porcentaje de luz incidente) se midió mediante una fotocélula de selenio tipo B (Megatron) (Luning & Dring 1979), descrita en el apartado 2.5.7.

#### Banyoles III

En la tabla 3.8 se presentan los valores numéricos del coeficiente de extinción en distintos niveles de las masas de agua estudiadas. Los valores del mixolimnion son bajos, entre 0,18 y 0,41  $m^{-1}$ , lo que indica una elevada penetración de la luz. En cambio, los valores monolimnéticos son claramente superiores, en-

Tabla 3.8 Coeficientes de extinción ( $\eta$ ) de la luz en las masas de agua estudiadas durante distintas épocas del año.

Masa de agua	Fecha	Intervalo de profundidad (m)	$\eta$ ( $m^{-1}$ )
Banyoles III	28.04.79	0-20	0,26
		21-25	0,93
	12.08.79	0-19	0,41
		20-25	1,10
	16.02.80	0-20	0,18
		21-25	1,83
Vilà	24.03.79	0-4	0,23
		5-7	6,71
	11.08.79	0-4	1,13
		5-7	7,13
	12.10.79	0-5	0,97
		5-7	7,13
	19.01.80	0-5	0,32
		5-7	4,12
Sisó	28.04.79	0-2	3,99
	16.07.79	0-2	4,90
	12.10.79	0-3	3,76
	16.02.80	0-2,5	3,48
Coromines	19.01.80	0-5	0,29
	24.03.79	0-2	2,13
		2-4	2,59
Negre 1	24.03.79	0-2,5	1,36
		2,5-4	2,90

tre 0,93 y 1,83m<sup>d</sup> correspondiendo a un cambio brusco de la penetración de la luz. Por otra parte, en la figura 3.25a se representa la distribución de luz incidente, apreciándose al comparar las estaciones del año que la penetración es superior durante el invierno respecto al verano (pendientes distintas). Los valores primaverales y otoñales (estos últimos no representados) quedan entre los del verano e invierno. Por lo tanto, la población de bacterias fotosintéticas que se encuentra en profundidad puede recibir más luz durante el periodo invernal que durante el estival, o, por lo menos, ser bastante parecida, porque la diferencia de transparencia se compensa con la diferencia de la irradiación (Jones 1978). A partir de la profundidad donde se encuentran las poblaciones bacterianas fotosintéticas la penetración disminuye bruscamente por efecto de filtro biológico que ejercen estas mismas poblaciones.

#### Laguna de Sisó

Los valores del coeficiente de extinción para las diferentes estaciones del año se indican en la tabla 3.8. La laguna de Sisó tiene unos coeficientes muy elevados, siempre superiores a 3,5m<sup>-1</sup>. Es de destacar que a partir de los 2,5-3m como máximo la penetración de la luz es inferior al 0,01%. Además (figura 3.25b), se repite la situación de Banyoles III, en la que las poblaciones bacterianas fotosintéticas reciben más luz durante el invierno que durante el verano, aunque en este caso las pendientes son más parecidas entre sí.

#### Laguna de Vilà

Los valores de los coeficientes de extinción se presentan en

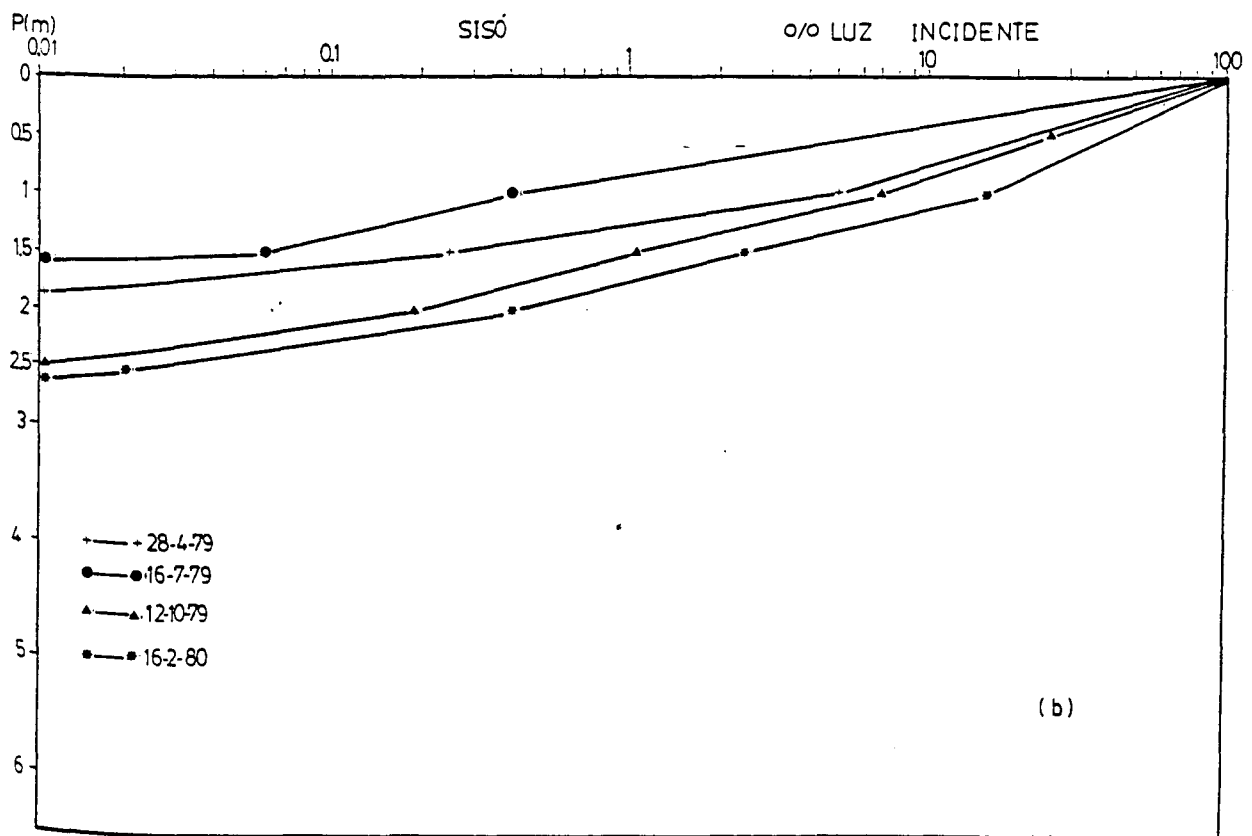
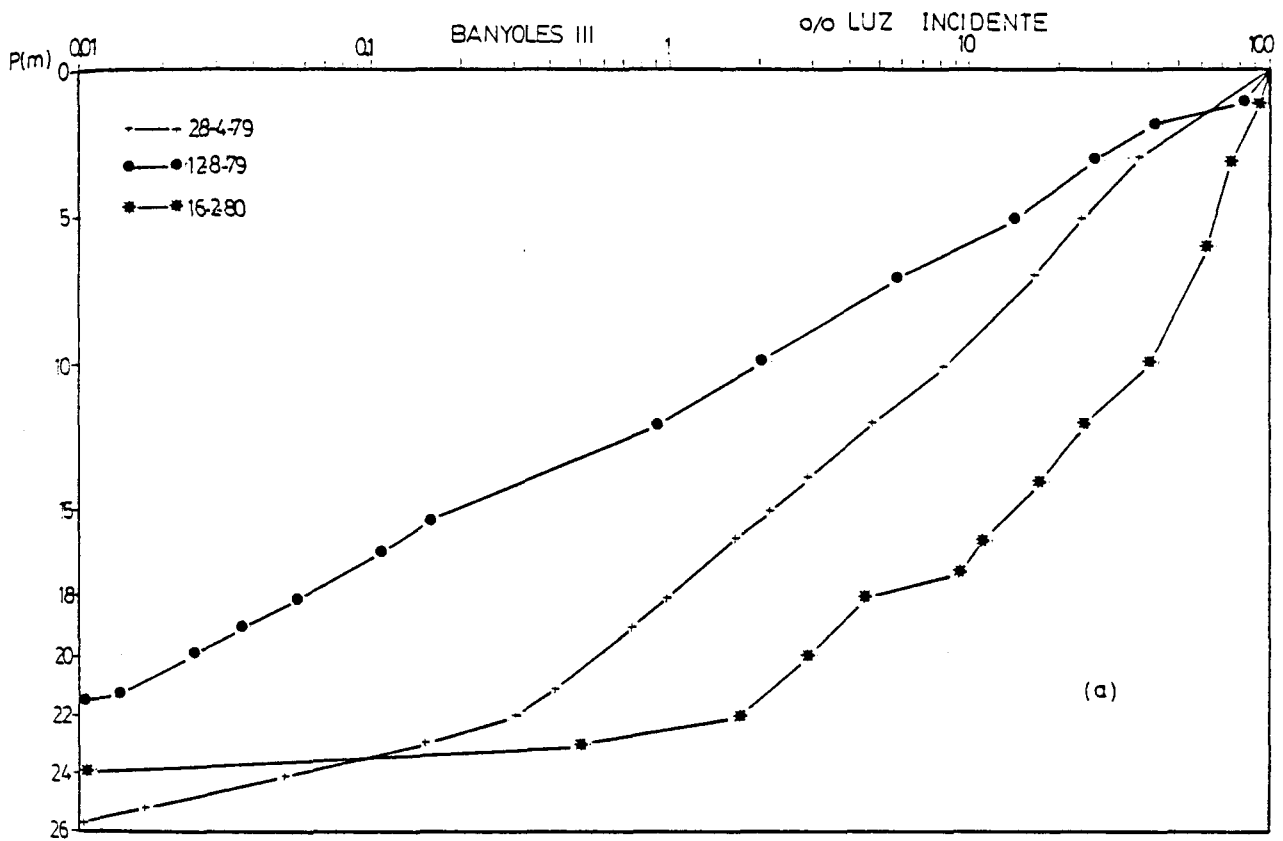


Figura 3.25 Distribución del porcentaje de la luz incidente en función de la profundidad en (a) Banyoles III y (b) laguna de Sisó en diferentes momentos del ciclo anual.

la tabla 3.8. En este caso también hay que separar el mixolimnion del monimolimnion en cuanto a sus características de penetración de la luz y de turbiedad (véase el apartado 3.2.8). Los valores del coeficiente de extinción del mixolimnion son parecidos o ligeramente superiores a los del mixolimnion de Banyoles III, oscilando entre 0,23 y 1,13 m<sup>-1</sup>. En verano se detectan los valores máximos, y a principios de primavera e invierno los mínimos. En el monimolimnion los valores son muy superiores a los del mixolimnion y oscilan entre 3,16 y 7,13 m<sup>-1</sup>.

En la figura 3.26a se representan las curvas de penetración de la luz, apreciándose de nuevo la mayor penetración invernal y primaveral de la luz respecto a la de verano y otoño, con pendientes muy diferentes en este caso.

#### Lagunas de Coromines y Negre 1

Ambas lagunas comparten características parecidas. Los valores del coeficiente de extinción son superiores en el caso de Coromines, aunque muy altos para ambas. Durante la primavera se detectaron valores de 1,3 a 2,1 m<sup>-1</sup> en el epilimnion. Los valores del hipolimnion (2-4 m) son superiores a los de aguas más superficiales, entre 2,59-2,89 m<sup>-1</sup>.

En la figura 3.26b se comparan las pendientes de la penetración de la luz en ambas lagunas. Se observa que la laguna Negre 1 tiene mayor penetración, aunque por debajo de los 3,5 m la luz que llega es inferior al 0,1%.

#### 3.2.8 Turbiedad

La turbiedad se midió mediante un turbidímetro vertical descrito en el apartado 2.5.8. Se expresa mediante el porcentaje

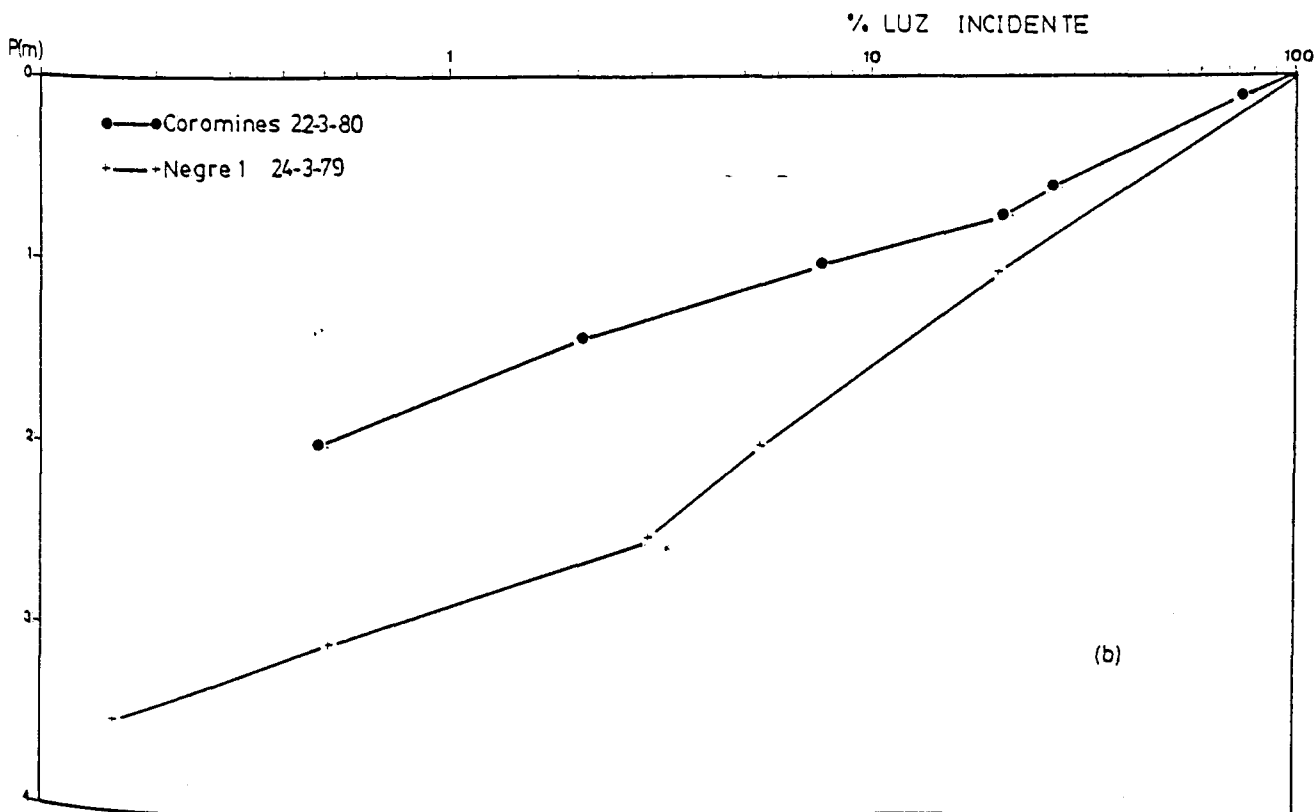
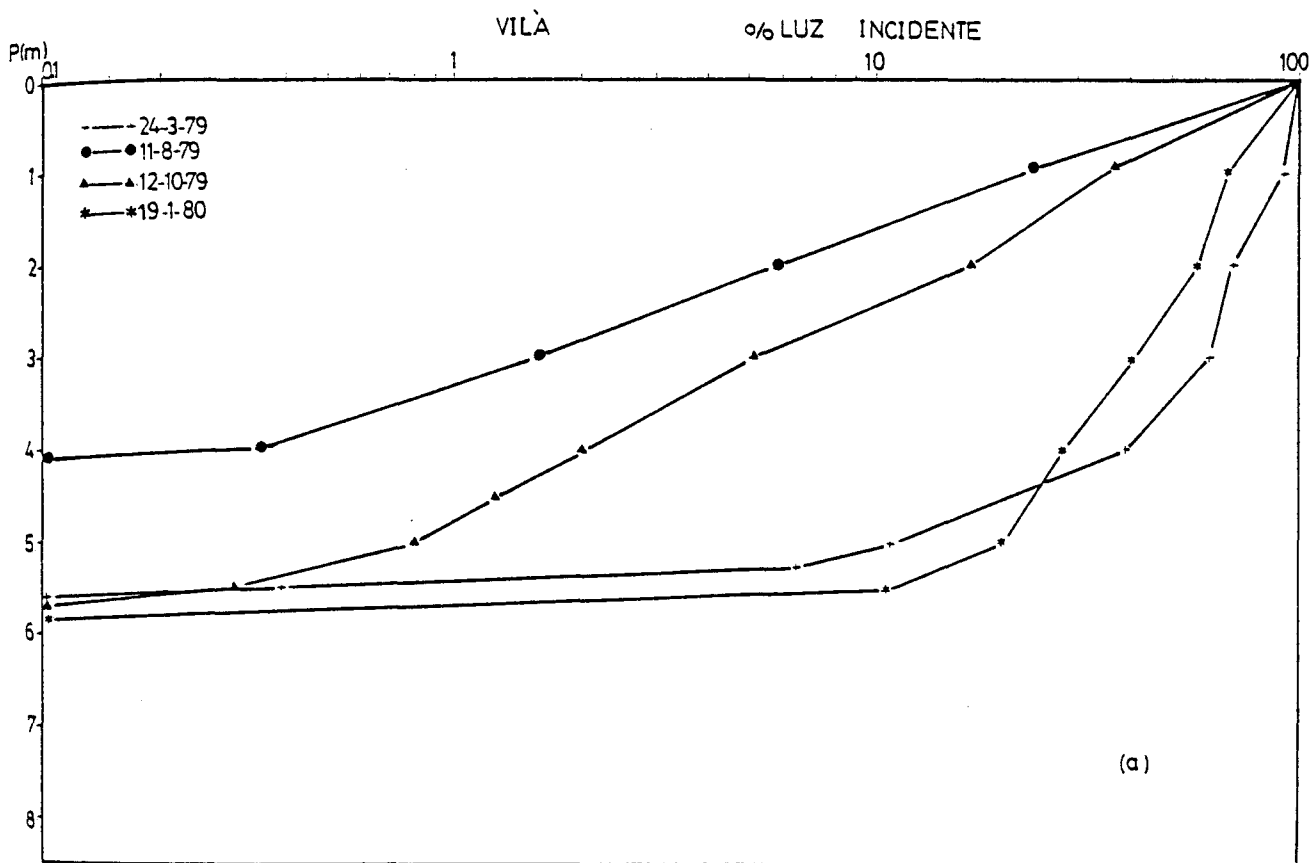


Figura 3.26 Distribución del porcentaje de la luz incidente en función de la profundidad de (a) laguna de Vilà y (b) de las lagunas de Coromines y Negre 1 en diferentes momentos del ciclo anual.



de transmisión respecto al aire.

En la figura 3.27a se han representado los valores de la turbiedad del agua en distintas profundidades de Banyoles III. Al comparar diferentes épocas del año, se aprecia que la turbiedad a nivel de la quemoclina es superior durante el verano, disminuyendo progresivamente hacia el invierno, cuando la población bacteriana es más escasa (transmisión elevada).

La turbiedad de Sisó (figura 3.27b) es elevada, y al comparar los valores entre sí se observa un aumento en verano, siendo menor en el resto de estaciones. Es de destacar este tipo de distribución de la turbiedad con picos pronunciados detectados por el turbidímetro, los cuales indican la posición y densidad relativa de los máximos poblacionales (Jewson & Taylor 1978).

La turbiedad de Vilà (figura 3.28a) tiene una distribución correspondiente a la meromixis de este lago. Las poblaciones más densas de bacterias fotosintéticas se encuentran entre 4,5 m en verano y 5,5-6 m en invierno. En este caso los máximos se presentan en primavera y verano. Es de destacar la subdivisión en dos picos de turbiedad de las poblaciones de primavera y verano debido a la presencia de dos poblaciones separadas en el espacio, con pico de turbiedad relativa superior para la población situada por encima (Chromatium) durante el verano e inferior durante la primavera. Estos fenómenos se han interpretado en función de la competencia entre ambas poblaciones. Por último, en la figura 3.28b, se comparan las lagunas de Coromines y Negre 1. La turbiedad aumenta a nivel de la capa donde coexisten el sulfhídrico y las bacterias fotosintéticas. La posición de la población bacteriana de la laguna de Coromines (1,5 m) es ligeramente superior a la de Negre 1 (2,5 m).

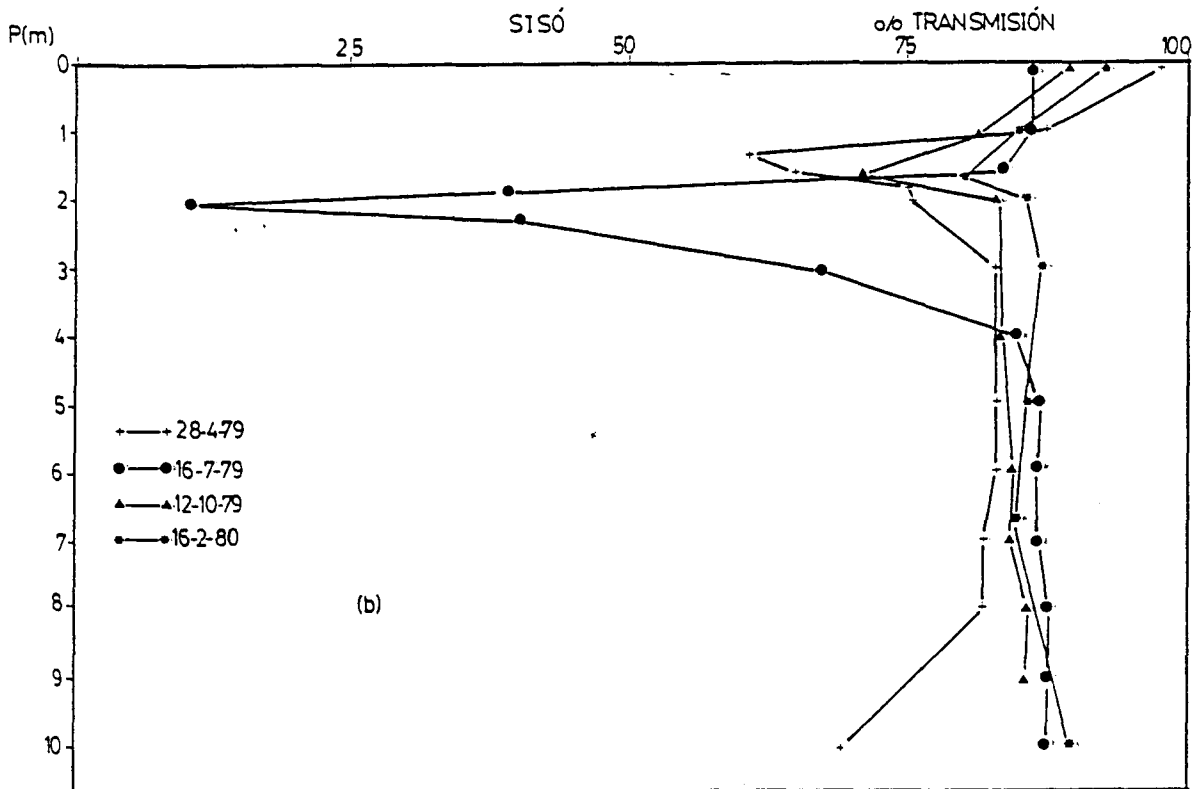
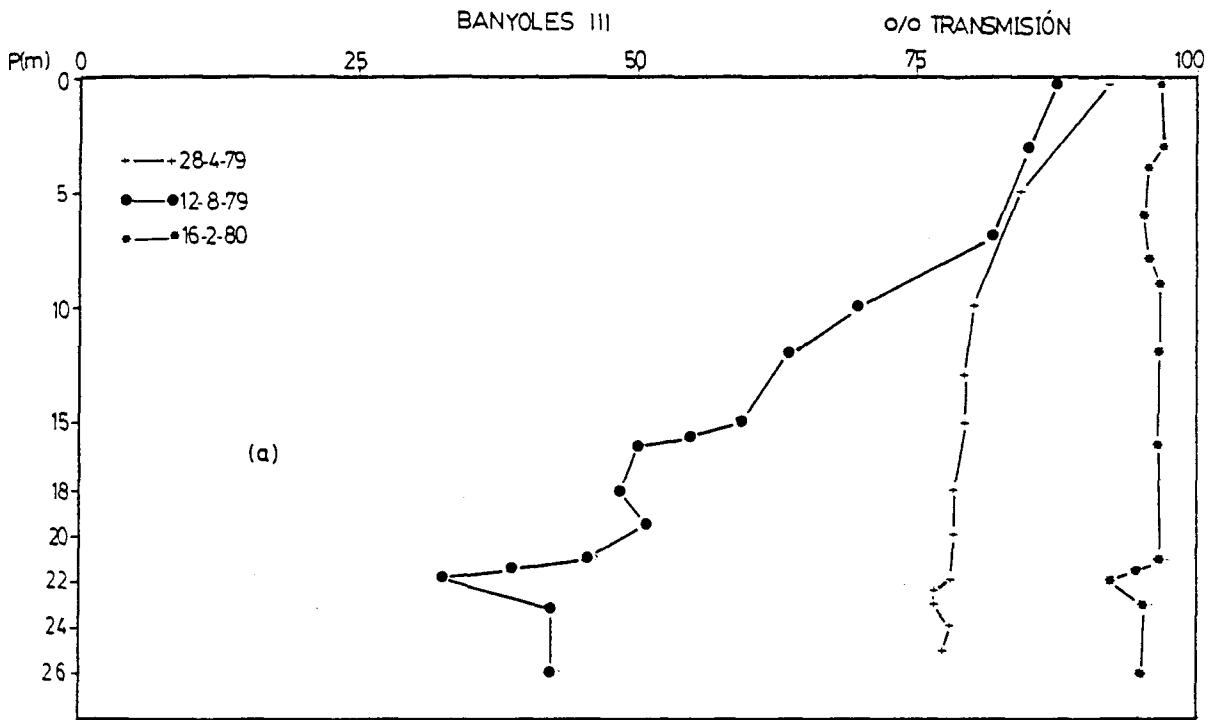


Figura 3.27 Distribución del porcentaje de la transmisión de la luz respecto a la profundidad en (a) Banyoles III y (b) Sisó en diferentes momentos del ciclo anual.

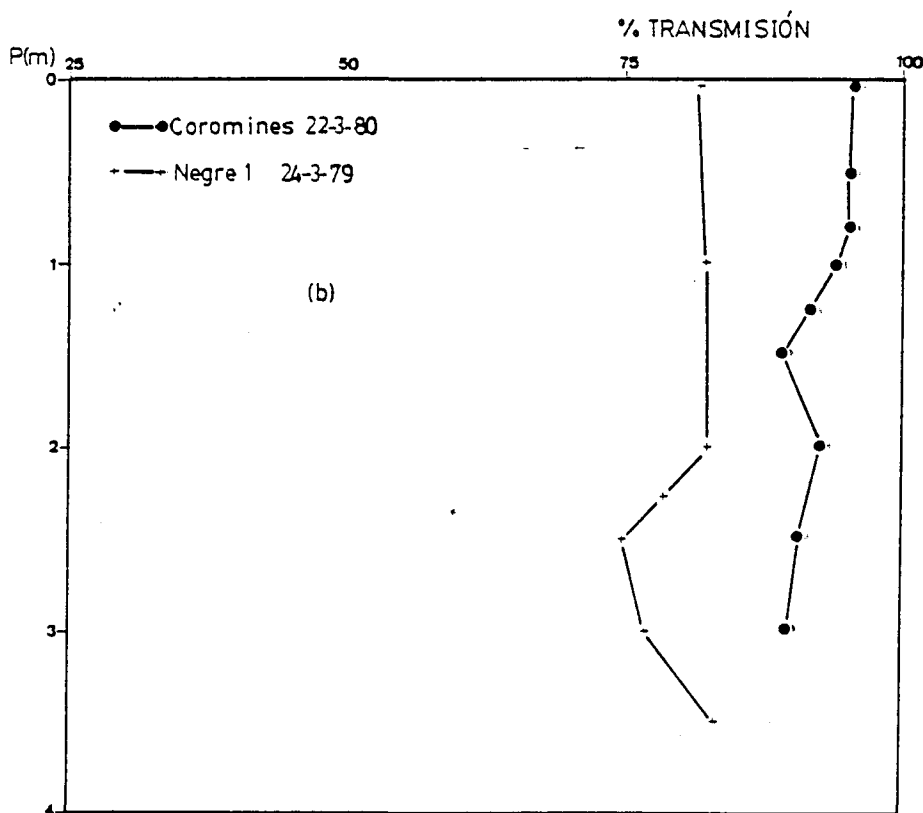
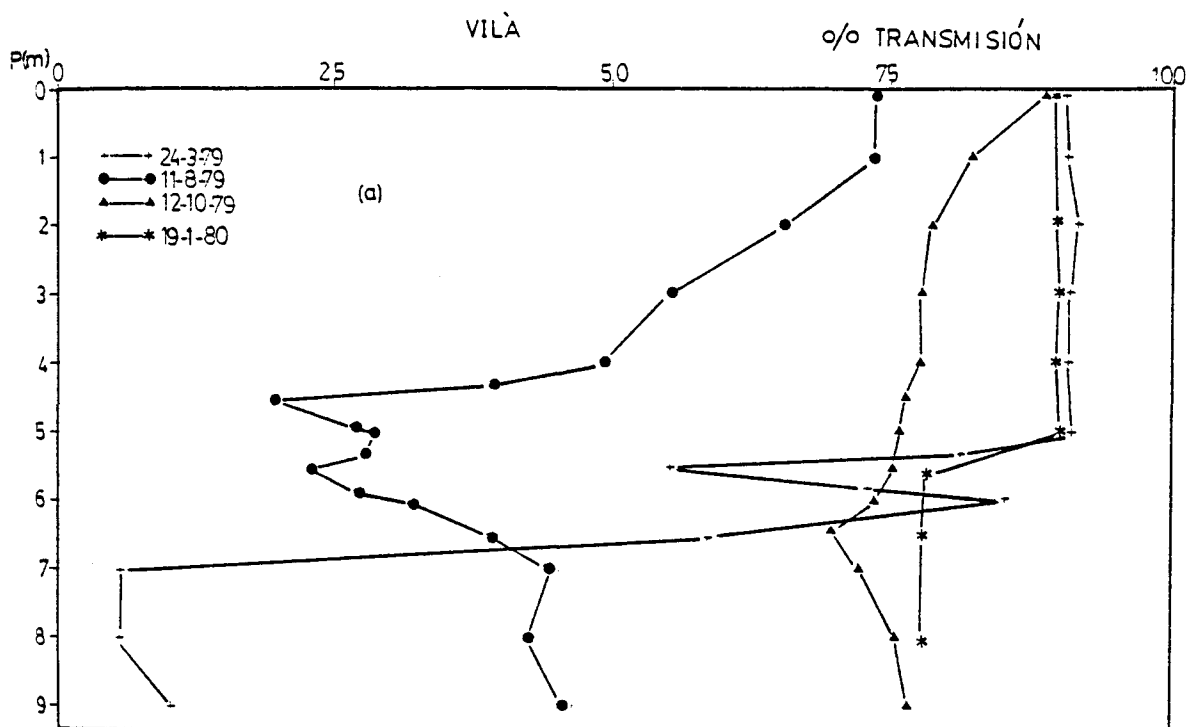


Figura 3.28 Distribución del porcentaje de la transmisión de la luz respecto a la profundidad en (a) laguna de Vilà y (b) lagunas de Coromines y Negre 1 en diferentes momentos del ciclo anual.

### 3.3 Características químicas del agua

Las características químicas de las distintas masas de agua estudiadas ofrecen la posibilidad de determinar algunos aspectos del nicho ecológico de las bacterias fotosintéticas. La evolución del quimismo del agua incide directamente en la dinámica de las poblaciones bacterianas, y en la pervivencia de éstas.

La existencia de meromixis en algunos de los lagos estudiados (Banyoles III y Vilà) permite a las bacterias fotosintéticas el aprovechamiento de una columna de agua estructurada en capas de distinta densidad y por lo tanto con interfases agua-agua. La aparición de esta estructura en medios acuáticos está en parte relacionada con la concentración de sales y, en nuestro caso, con la intrusión de aguas sulfatadas, o también por la presencia de termoclina.

Las aguas de la zona de Banyoles tienen un alto contenido en sulfatos y elevada reserva alcalina. Son aguas con escasa concentración de aniones nutritivos (fosfato y nitrato) y abundancia de calcio y magnesio. A continuación se presentan los principales parámetros químicos y su variación espacio-temporal.

#### 3.3.1 Sulfatos

##### Banyoles III

La evolución de la concentración del sulfato, anión mayoritario en el agua de Banyoles III se aprecia en la figura 3.29. La isolínea de 7,3 mmol/l separa perfectamente el mixolimnion del monimolimnion. En el primero, la concentración de sulfatos es prácticamente uniforme en toda la columna hasta los 18-19 m en los periodos sin estratificación térmica, con concentraciones entre 5 y 6 mmol/l y con tendencia a aumentar a lo largo del año (iso-

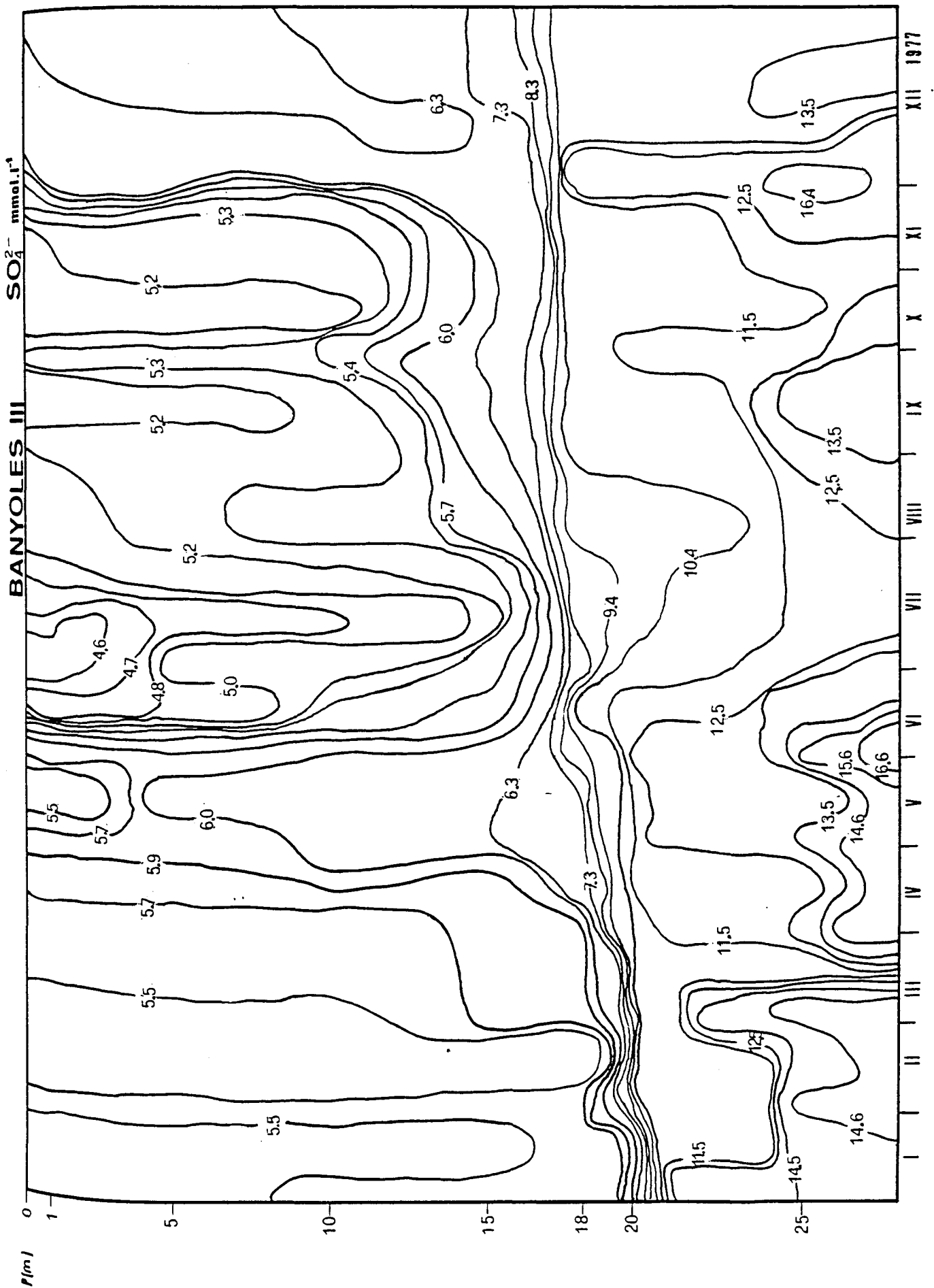


Figura 3.29 Diagrama profundidad-tiempo de las isopletas de la concentración de sulfato ( $\text{mmol/l}$ ) en Banyoles III (enero-diciembre 1977).

línea de 6 mmol/l). Es de destacar la presencia de una zona del mixolimnion limitada por la isolínea de 5,7 mmol/l entre los meses de junio a octubre de 1977, dentro del periodo de estratificación térmica. Durante los meses de junio-julio de 1977 se detecta una estratificación de la concentración de sulfatos que coincide con la posición de la termoclina, siendo más baja en el epilimnion (4,6 mmol/l) que en el hipolimnion (5,0 mmol/l). En cambio, al final de la fase de estratificación térmica (octubre, noviembre) se detecta una estratificación de la concentración de sulfatos en el mixolimnion a nivel de la termoclina, pero ésta ya se sitúa alrededor de los 13 m, es decir a bastante profundidad y cercana a la quemoclina. Se observa, por lo tanto, una interrelación entre la estratificación térmica y la concentración de sulfatos debido a la barrera a la difusión vertical que impone dicha estratificación. Paulatinamente, al descender la termoclina y hacerse menor la distancia entre ésta y la quemoclina, aumenta la concentración de sulfatos en el hipolimnion ( $> 5,4$  mmol/l) si se compara con la concentración de sulfatos (4,6 mmol/l) cuando la termoclina se encuentra en su cota más alta (3-5 m).

La concentración de sulfatos en el monimolimnion es muy alta, alcanzándose valores de 14,5 mmol/l en febrero de 1977. Por otra parte, los sulfatos no están estratificados como en la zona de la quemoclina. El monimolimnion refleja con mayor claridad la entrada de agua por el fondo, y por ello, se aprecian "digitaciones" de isolíneas con concentraciones superiores. Por último, en el lodo, a partir de los 25 m, se alcanzan las más altas concentraciones de sulfato de la columna, llegándose hasta los 16,6 mmol/l.

Así pues, para explicar la dinámica de la variación de sulfatos en Banyoles III hay que separar inicialmente las dos capas

(mixo- y monimolimnion) en que está dividida la columna de agua.

En el mixolimnion la concentración de sulfato es en conjunto la mitad de la concentración monimolimnética. En el mixolimnion interviene, por una parte, la dilución debida a las aguas pluviales y/o aguas freáticas no sulfatadas. Por otra parte, la entrada de aguas sulfatadas que se mezclan en toda la columna en el resto del lago. Estos factores inciden sobre el mixolimnion de Banyoles III, que está conectado al resto del lago. En este punto es interesante señalar que en el epilimnion, durante el periodo entre junio y noviembre (estratificación térmica), se presentan mínimos de sulfato que pueden explicarse teniendo en cuenta la presencia de la termoclina, la cual separa las aguas del fondo más concentradas en sulfato de las aguas superficiales diluidas. Esta distribución sólo se mantiene durante el periodo de estratificación estival.

La concentración de sulfatos en el monimolimnion está regulada principalmente por el proceso de sulfatorreducción (véase el apartado 3.4.6) y por el flujo del agua freática que penetra por el fondo, además de las pérdidas por difusión hacia el mixolimnion.

#### Laguna de Sisó

En la laguna de Sisó las concentraciones de sulfatos son elevadas y superiores a las del mixolimnion de Banyoles III (figura 3.30). Durante los meses de febrero a junio de 1977 los valores de la concentración de sulfatos son por término medio alrededor de 10,4 mmol/l. En superficie estos valores son inferiores (entre 8,3 y 9,8 mmol/l). En este periodo de tiempo (febrero-junio) se da también una disminución más drástica de la concentración que en superficie, alcanzándose los mínimos anuales de toda la columna

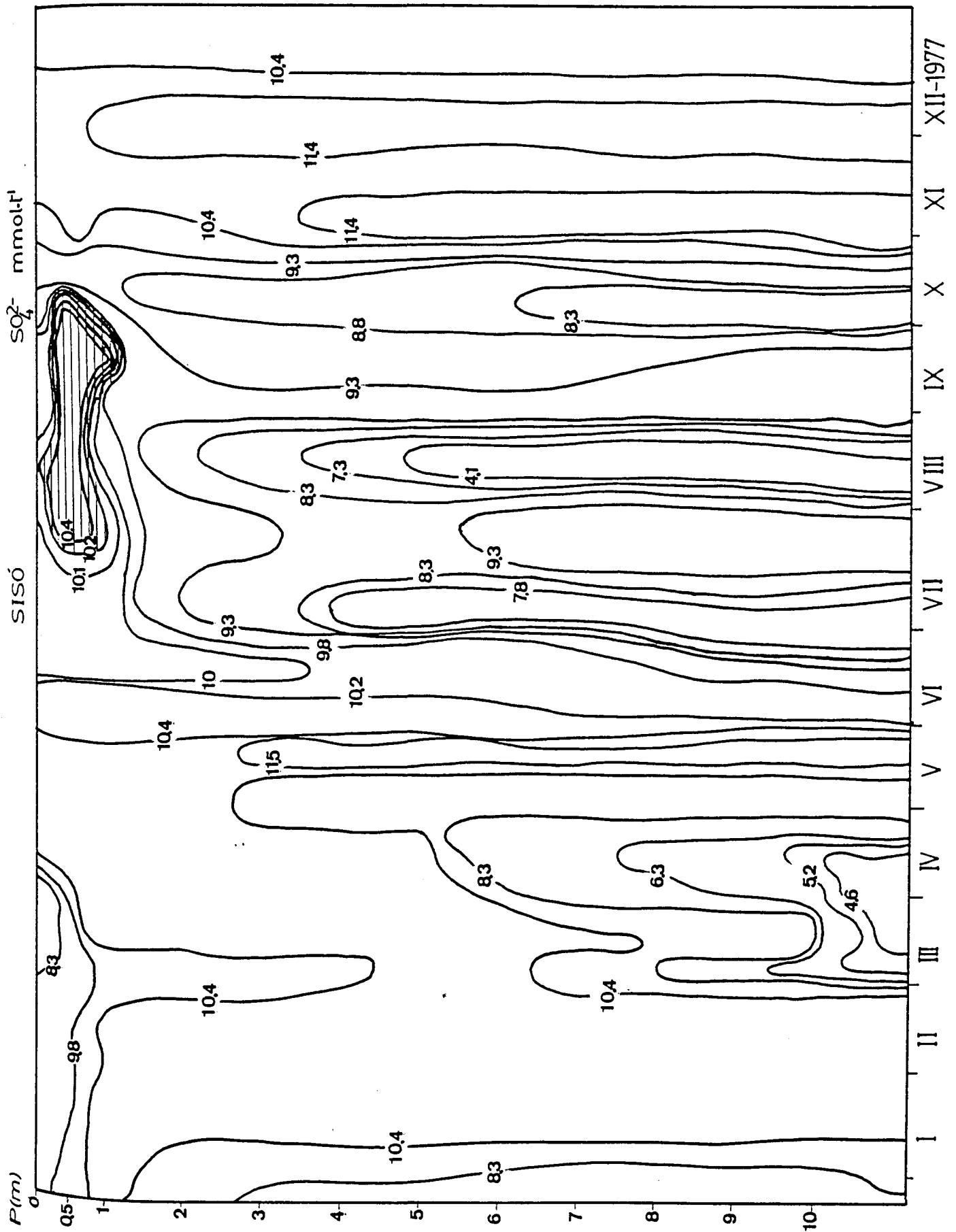


Figura 3.30 Diagrama profundidad-tiempo de las isopletas de la concentración de sulfato (mmol/l) en la laguna de Sisó (enero-diciembre 1977).



de agua (4,6 mmol/l) entre los 9-11 m, durante los meses de marzo-abril, probablemente debido a una disminución en el flujo de entrada del agua y disminución de sulfatos por efecto biológico (sulfatorreducción).

A partir del mes de junio y hasta octubre la distribución de las isolíneas muestran una clara estratificación, con la particularidad de encontrarse una masa de agua con mayor concentración de sulfatos (10,4 mmol/l) cercana a la superficie, entre 0,5 y 1,5 m. Tanto en superficie como por debajo de esta capa, la concentración de sulfatos es inferior (9,3-9,8 mmol/l). Este hecho no puede justificarse por simple difusión de los sulfatos sino que necesita un mecanismo generador de sulfatos en esta capa, que sólo puede explicarse por la presencia de una gran densidad de bacterias fotosintéticas que excretan sulfatos al utilizar los glóbulos de azufre intracelulares como fuente de electrones, oxidándolos hasta sulfato. Al perderse la estratificación térmica, la concentración de sulfatos se hace uniforme en toda la columna aumentando hasta 10,4-11,4 mmol/l.

Por lo tanto, en la laguna anaerobia de Sisó, no es posible separar la dinámica de la variación de sulfatos de la actividad de los microorganismos tanto en la columna de agua como en el sedimento. Tenemos pues que la concentración de sulfato es la resultante de tres factores principales (además de una cierta dilución en superficie por las aguas de lluvia); (a) concentración de sulfatos del agua de entrada, (b) reducción de sulfatos por microorganismos del sedimento y de la columna de agua, y (c) oxidación del sulfhídrico, primero a azufre y en último término a sulfato, por las poblaciones de bacterias fotosintéticas (véase el apartado 3.4.2).

### Laguna de Vilà

La concentración de sulfatos en la laguna de Vilà (tabla 3.9) tiene una distribución similar a la de la columna de agua en Banyoles III. En el mixolimnion (entre 0 y 5 m) la concentración oscila entre 4,8 y 5,4 mmol/l. En el monimolimnion (5-8 m) la concentración varía entre 9,2 y 12 mmol/l. En el lodo en suspensión (a partir de los 10 m en ambas cubetas, en las fechas indicadas en la tabla) la concentración de sulfatos es de 12,6 mmol/l en Vilà II y 13,2 mmol/l en Vilà I (véase figura 3.6a).

Por lo tanto, también en este caso la concentración de sulfatos determina la existencia de una quemoclina con un gradiente de sulfatos entre 5 y 12,8 mmol/l. Durante el otoño de 1979 se detectó un déficit de sulfatos en profundidad, con valores mínimos de 6,8 mmol/l en el monimolimnion que se reflejó en la concentración de sulfhídrico (también mínima durante esta época).

En resumen, puede decirse que en Vilà la dinámica de la concentración de sulfatos sigue la misma pauta que en Banyoles III y Sisó. Sin embargo, a diferencia de Sisó, en Vilà no se detecta aumento de sulfatos como resultado directo de la acción de las bacterias fotosintéticas, probablemente porque estas poblaciones no alcanzan densidades suficientes (véase el apartado 3.4.2).

### Lagunas de Coromines y Negre 1

Ambas lagunas tienen un bajo contenido en sulfatos (tablas 3.10 y 3.11) debido al origen pluvial de sus aguas. La laguna de Coromines tiene valores uniformes de sulfato en la columna con excepción de las capas profundas en verano con una ligera disminución. Los valores oscilan entre 0,31 y 0,71 mmol/l.

Tabla 3.9 Parámetros químicos principales de la columna de agua de la laguna de Villà en cuatro épocas del año.

Fecha	P (m)	Alcalinidad (mmol/l)	Sulfatos (mmol/l)	Nitratos ( $\mu$ mol/l)	Nitritos ( $\mu$ mol/l)	Fosfatos ( $\mu$ mol/l)
12.05.79	0	3,9	4,8	1,2	0,1	0*
	5	4,3	4,8	1,4	0,1	0
	5,5	4,7	5,5	0,5	0	0,81
	6	8,3	9,2	0	0	0,75
12.08.79	8	8,8	9,5	0	0	0,72
	0	2,9	5,3	4,4	0,1	0,23
	3	2,8	5,3	4,5	0,2	0,17
	4,5	7,5	5,3	0,1	0	0,40
12.10.79	6,5	7,8	10,9	0	0	13,01
	8	8,1	11,6	0,1	0	1,26
	1	3,7	5,4	5,0	0,2	0
	4,5	3,4	6,0	5,6	0,3	0
15.12.79	5,5	4,0	5,8	3,1	0,2	0
	6,5	8,3	7,2	0	0	0
	9	8,3	6,8	0	0,2	3,50
	0	3,2	5,0	2,4	0,5	-**
	3	3,3	5,0	2,6	0,5	-
	5	3,5	5,2	2,9	0,6	-
	6	4,6	11,9	0,1	0	-
	7	4,5	11,9	0,1	0	-

\* 0: no detectable; \*\* - : no efectuado.

Tabla 3.10 Parámetros químicos principales de la columna de agua de la laguna de Coromines en cuatro épocas del año.

Fecha	P (m)	Alcalinidad (mmol/l)	Sulfatos (mmol/l)	Nitratos ( $\mu$ mol/l)	Nitritos ( $\mu$ mol/l)	Fosfatos ( $\mu$ mol/l)
11.03.78	0	4,1	0,69	0,1	0,2	**
	1	4,5	0,65	0,1	0,2	-
	3	5,7	0,65	0,4	0*	-
	4	6,2	0,65	0,3	0,1	-
12.08.78	0	5,4	0,70	0,6	0,2	0
	1	5,1	0,71	0,3	0,6	0
	2	5,1	0,30	0	0,3	4,24
	3	7,3	0,31	0	0,5	21,32
7.10.78	0	5,4	0,60	-	-	0
	1	5,0	0,60	-	-	0
	2	5,2	0,70	-	-	0
	2,5	5,4	0,70	-	-	0,86
	3	7,4	0,60	-	-	23,10
	0	4,2	0,68	-	-	-
24.02.79	1	4,6	0,61	-	-	-
	2	5,6	0,61	-	-	-
	3	6,3	0,62	-	-	-

\* 0 : no detectable

\*\* - : no efectuado

Tabla 3.1.1 Parámetros químicos principales de la columna de agua de la laguna de Negre 1 en cuatro épocas del año.

Fecha	P (m)	Alcalinidad (mmol/l)	Sulfatos (mmol/l)	Nitratos ( $\mu$ mol/l)	Nitritos ( $\mu$ mol/l)	Fosfatos ( $\mu$ mol/l)
11.03.78	0	5,7	0,35	3,85	0,28	**
	1	5,6	0,35	3,74	0,47	-
	4	6,6	0,25	0,71	0,33	-
12.08.78	0	4,9	0,29	0,33	0,19	*
	1	4,9	0,37	0,38	0,17	0
	2	-	-	0	-	-
	3	6,1	0,37	0	8,78	3,5
7.10.78	4	6,7	0,35	0	20,76	15,3
	0	5,4	0,30	0,54	0,50	0
	1	5,6	0,30	0,14	0,30	0
	2	5,4	0,30	13,40	1,00	0
24.02.79	3	5,5	0,10	5,23	16,10	0
	4	5,6	0,10	0,21	2,60	0
	0	5,6	0,30	3,40	-	0
	1	5,7	0,32	3,80	-	0
	2	5,6	0,30	2,80	-	0
	3	5,6	0,33	0,90	-	0

\* 0: no detectable

\*\* -: no efectuado

Las concentraciones de sulfato de la laguna Negre 1 son inferiores a las de Coromines, con aguas también de procedencia pluvial. Con excepción del verano con valores de 0,1 mmol/l en el fondo, el resto del año los valores oscilan entre 0,25 y 0,37 mmol/l.

Por consiguiente, en Coromines y Negre 1, ambos eutróficos, la concentración de sulfatos no es la suficiente para que este anión pueda ser considerado como catalizador del ciclo de la materia en el hipolimnion anaerobio de ambas lagunas (véase el apartado 4.3). La concentración mínima de sulfato se mantiene casi constante en toda la columna. En Negre 1 todavía la concentración de sulfatos es menor que en Coromines, sin alcanzar en ambos casos 1 mmol/l.

### 3.3.2 Nitratos

#### Banyoles III

La concentración de nitratos en el mixolimnion de Banyoles III (figura 3.31a) durante el invierno y primavera es prácticamente uniforme, oscilando entre 3 y 7  $\mu\text{mol/l}$ . Durante el mes de mayo la concentración es superior en toda la columna, alcanzándose un máximo de 10,8  $\mu\text{mol/l}$  a los 15 m. Posteriormente, durante el periodo de estratificación térmica (entre junio y octubre), la concentración de nitratos también se estratifica junto con la termoclina, apreciándose una intensa disminución del nitrato en el epilimnion y un aumento general en el hipolimnion. En el epilimnion los valores son todos inferiores a 1  $\mu\text{mol/l}$ , llegando a desaparecer en superficie. Por último, en el hipolimnion (10-15 m) se detectan los máximos absolutos del año, con 21,5  $\mu\text{mol/l}$  a los 15 m en julio.

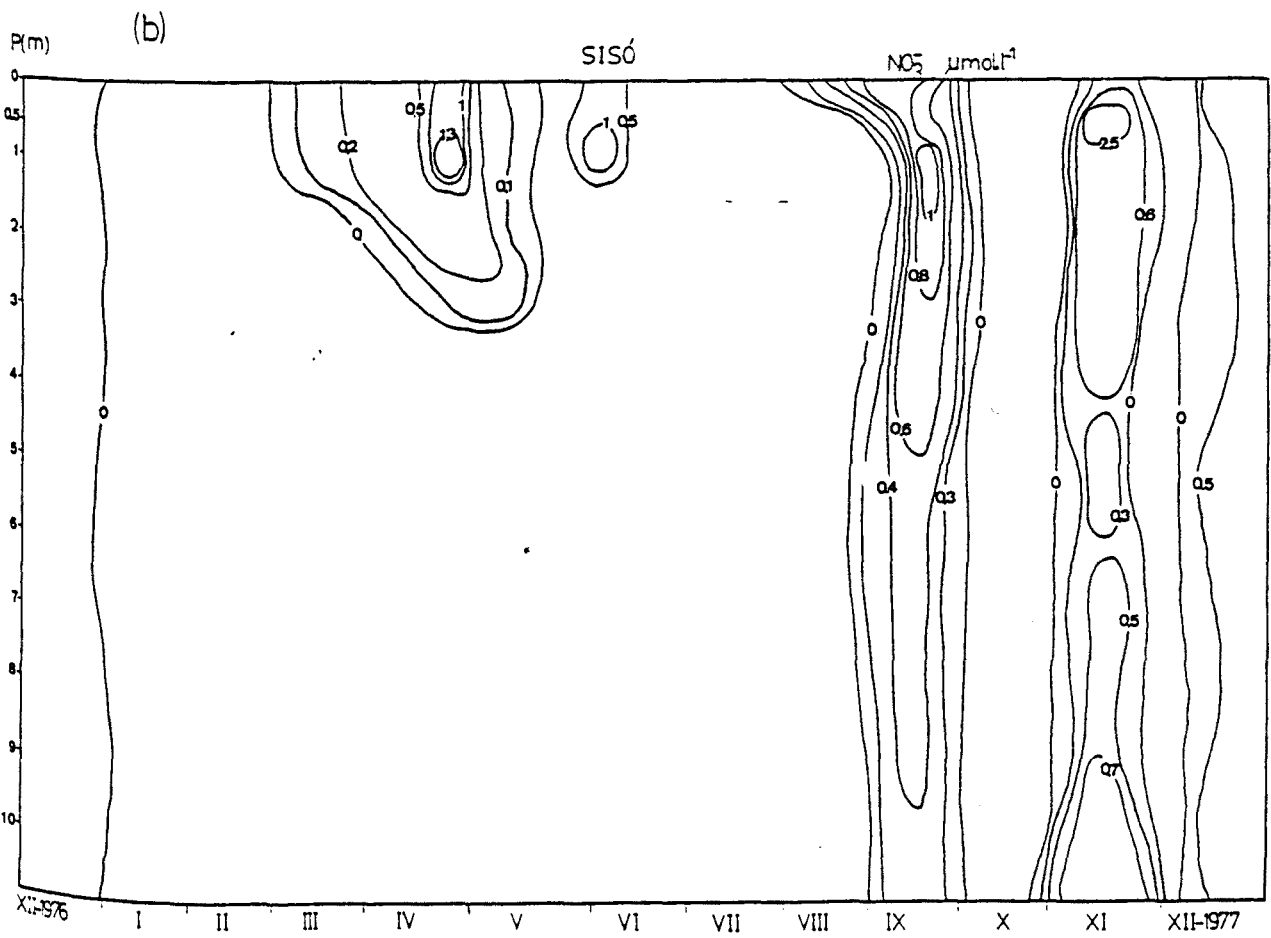
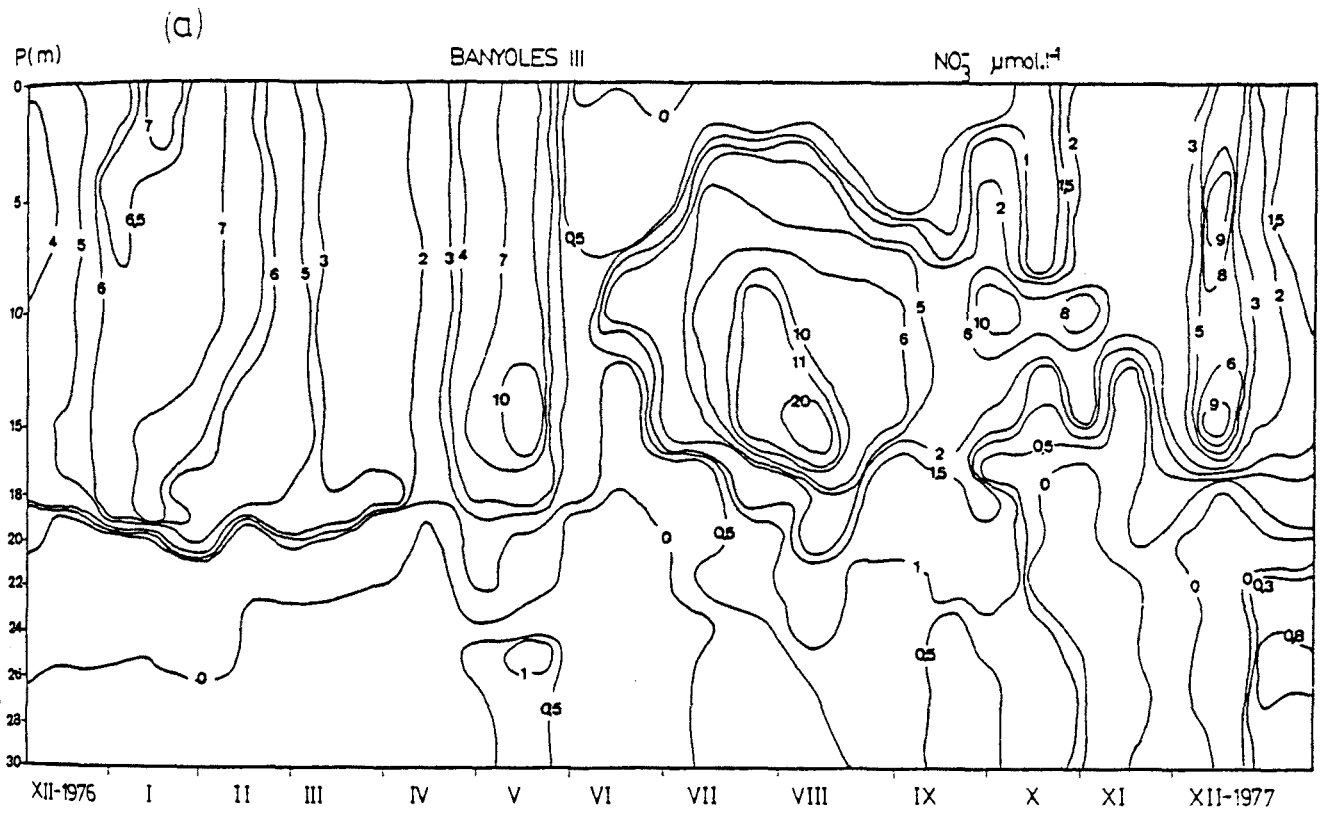


Figura 3.31 Diagrama profundidad-tiempo de las concentraciones estacionales de nitrato ( $\mu\text{mol}/\text{l}$ ) en (a) Banyoles III y (b) laguna de Sisó (diciembre 1976-diciembre 1977).

En conjunto, puede observarse que los nitratos presentan oscilaciones periódicas y bastante regulares. En la quemoclina los valores son generalmente bajos, oscilando entre 1-1,5  $\mu\text{mol/l}$ . En el monimolimnion las concentraciones son siempre inferiores a  $1\mu\text{mol/l}$  siendo indetectable durante gran parte del año, lo que está en relación con la clara situación reductora del monimolimnion. Lo mismo sucede en el lodo, con concentraciones parecidas a las del monimolimnion.

#### Laguna de Sisó

Siendo esta laguna anaerobia durante gran parte del año, la concentración de nitratos rara vez supera  $1\mu\text{mol/l}$  (figura 3.31b). Tan sólo se detectan nitratos en superficie entre marzo y mayo de 1977 (periodo con oxígeno). También aparecen nitratos en septiembre y de nuevo en noviembre y diciembre. En el resto del año no se detectan nitratos en toda la columna de agua.

#### Laguna de Vilà

La concentración de nitratos de la columna de agua de Vilà es en general baja (véase la tabla 3.9) oscilando entre 1,2 y 5,6  $\mu\text{mol/l}$  en el mixolimnion y resultando prácticamente indetectable en el monimolimnion. Esta distribución es parecida a la de la cubeta meromíctica Banyóles III, con el déficit de nitratos en el fondo de la laguna. En cuanto a la distribución anual, los valores mínimos se presentan en primavera ( $1,2\mu\text{mol/l}$ ) y máximas en otoño ( $5,6\mu\text{mol/l}$ ). Los valores de invierno y verano son intermedios entre los valores citados. Se presenta por tanto un mixolimnion con cierta cantidad de nitrato sin llegar a ser un nutriente limitante para el crecimiento algal en el mixolimnion.



En los niveles del fondo el déficit es patente, pero los organismos utilizan otra fuente de nitrógeno como es el amonio.

### Lagunas de Coromines y Negre 1

Los valores de nitratos de Coromines oscilan desde indetectables hasta  $0,6 \mu\text{mol}/\text{l}$  (véase la tabla 3.10). Estas concentraciones son relativamente bajas, sobre todo si se comparan con la laguna Negre 1 (véase la tabla 3.11), probablemente debido a una situación más reductora en las aguas de Coromines. Durante el verano desaparece el nitrato en profundidad.

La laguna Negre 1 contiene una mayor cantidad de nitrato en sus aguas durante todo el año, con valores que oscilan entre  $0,1$  y  $13,4 \mu\text{mol}/\text{l}$ . Con excepción de los valores indetectables estivales en profundidad, la presencia de estas concentraciones de nitratos revela las condiciones eutróficas de esta laguna. Los máximos de nitratos se presentan en otoño ( $13,4 \mu\text{mol}/\text{l}$ ).

### 3.3.3 Nitritos

#### Banyoles III

La concentración de nitritos (figura 3.32a) en el mixolimnion de Banyoles III sigue una distribución parecida a la de nitratos. Durante el periodo de mezcla vertical de invierno-primavera, la concentración mixolimnética oscila entre  $0,1$  y  $0,7 \mu\text{mol}/\text{l}$  (con los máximos de  $0,7 \mu\text{mol}/\text{l}$  a 5 m de profundidad en mayo, y mínimos  $0,1 \mu\text{mol}/\text{l}$  a 10-15 m en enero. Durante el periodo estratificado se aprecia una distribución asimétrica respecto a la termoclina. En el epilimnion la concentración es baja, alrededor de  $0,1-0,2 \mu\text{mol}/\text{l}$  e incluso indetectable durante el mes de septiembre, aumentando al final en noviembre hasta  $0,9 \mu\text{mol}/\text{l}$  en noviembre.

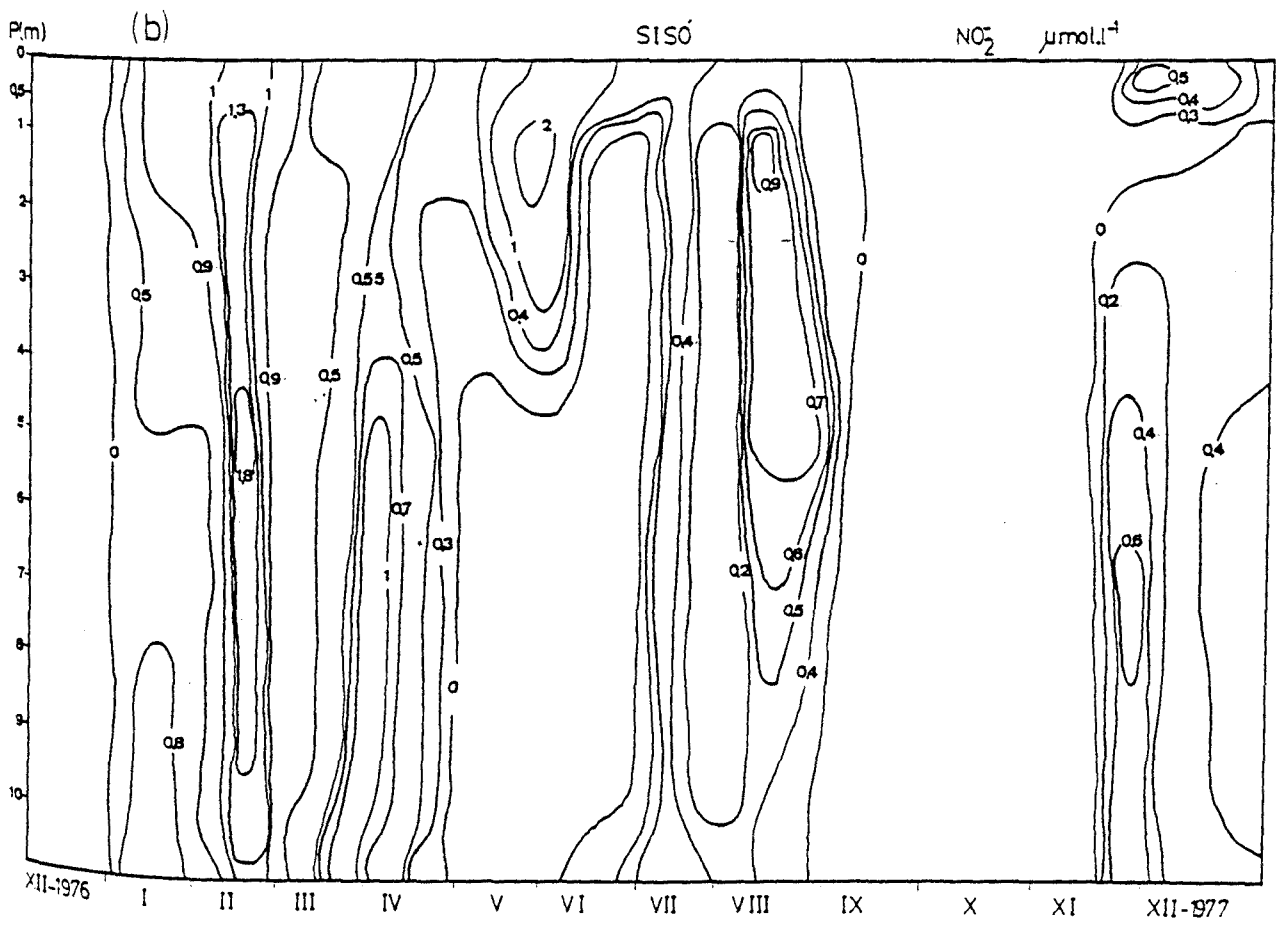
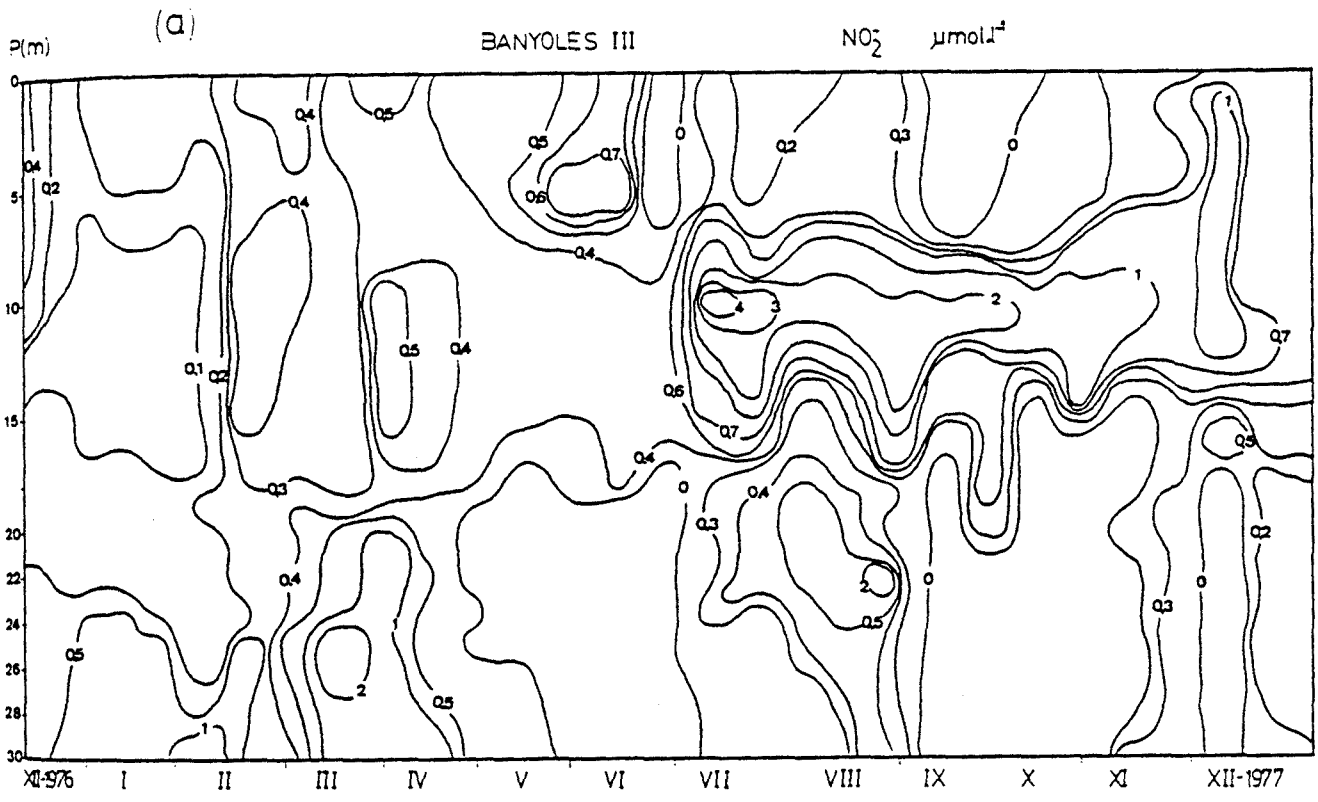


Figura 3.32 Diagrama profundidad-tiempo de las concentraciones estacionales de nitrato ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) en (a) Banyoles III y (b) Sisó (diciembre 1976-diciembre 1977).

En el hipolimnion la concentración es más alta, con máximos de 4  $\mu\text{mol/l}$  en julio y mínimos de 1  $\mu\text{mol/l}$  en octubre.

La quemoclina queda mal delimitada por las isolíneas de nitrito, aunque se puede seguir parcialmente con las isolíneas de 0-0,5  $\mu\text{mol/l}$  a los 18-20 m de profundidad.

En el monimolimnion también es muy variable la concentración de nitritos, siendo indetectable durante mayo-junio y septiembre-octubre. Estos intervalos mínimos oscilan con periodos de concentraciones medias de 2,5  $\mu\text{mol/l}$  en marzo y también en julio-agosto y de 0,5  $\mu\text{mol/l}$  en noviembre-diciembre.

#### Laguna de Sisó

La concentración de nitritos en la laguna de Sisó (figura 3.32b) es en conjunto muy baja, con valores que oscilan entre mínimos de 0 hasta 2  $\mu\text{mol/l}$ .

Durante los meses de septiembre a noviembre no hay nitritos en la columna de agua. Durante la primavera la distribución del nitrito es columnar, oscilando desde 0,5 a 1,8  $\mu\text{mol/l}$  y nulos en el hipolimnion. Esta estratificación de la concentración de nitritos no es constante durante todo el periodo con termoclina. A partir del mes de junio-julio hasta agosto, los valores son bajos y de distribución columnar, hasta llegar a ser cero a partir de agosto. A partir del mes de noviembre aumenta lentamente la concentración de nitritos hasta 0,6  $\mu\text{mol/l}$  en invierno.

#### Laguna de Vilà

En la laguna de Vilà, la concentración de nitritos (tabla 3.9), no sobrepasa los 0,6  $\mu\text{mol/l}$  en toda la columna de agua, disminuyendo en el monimolimnion donde prácticamente desaparece.

Esta situación está de acuerdo con la existencia de condiciones anaerobias que condicionan una rápida utilización del nitrato y nitrito como aceptores terminales.

#### Lagunas de Coromines y Negre 1

La concentración de nitritos tiene en estas lagunas una distribución paralela a la de los nitratos. Es decir, baja en Coromines (máximos de  $0,6 \mu\text{mol/l}$ ) y alta en Negre 1 (máximo de  $20,7 \mu\text{mol/l}$ ), con excepción de los valores estivales en profundidad, que en este caso no disminuyen sino que o bien se mantienen, como en Coromines, o bien aumentan, en Negre 1, con los máximos anuales a 4 m de profundidad.

#### 3.3.4 Amonio

##### Banyoles III

La concentración de amonio sigue en Banyoles III (figura 3.33a) una distribución opuesta a la de nitratos en cuanto a los valores absolutos, con máximos en la capa anóxica y mínimos en las zonas oxigenadas.

Sólo se dispone de datos de la época de estratificación estival y de otoño-invierno. Durante el verano la concentración en el mixolimnion es baja entre 0 y  $40 \mu\text{mol/l}$ . Durante el otoño y principios de invierno, la concentración mixolimnética es máxima alrededor de los  $40 \mu\text{mol/l}$ . La concentración de amonio aumenta progresivamente a partir de los 10-13 m hasta el nivel de la quemoclina (18-20 m). A partir de esta capa el gradiente es brusco, llegándose hasta valores de  $400 \mu\text{mol/l}$ . En el lodo desciende de nuevo la concentración de amonio hasta valores de  $15 \mu\text{mol/l}$ .

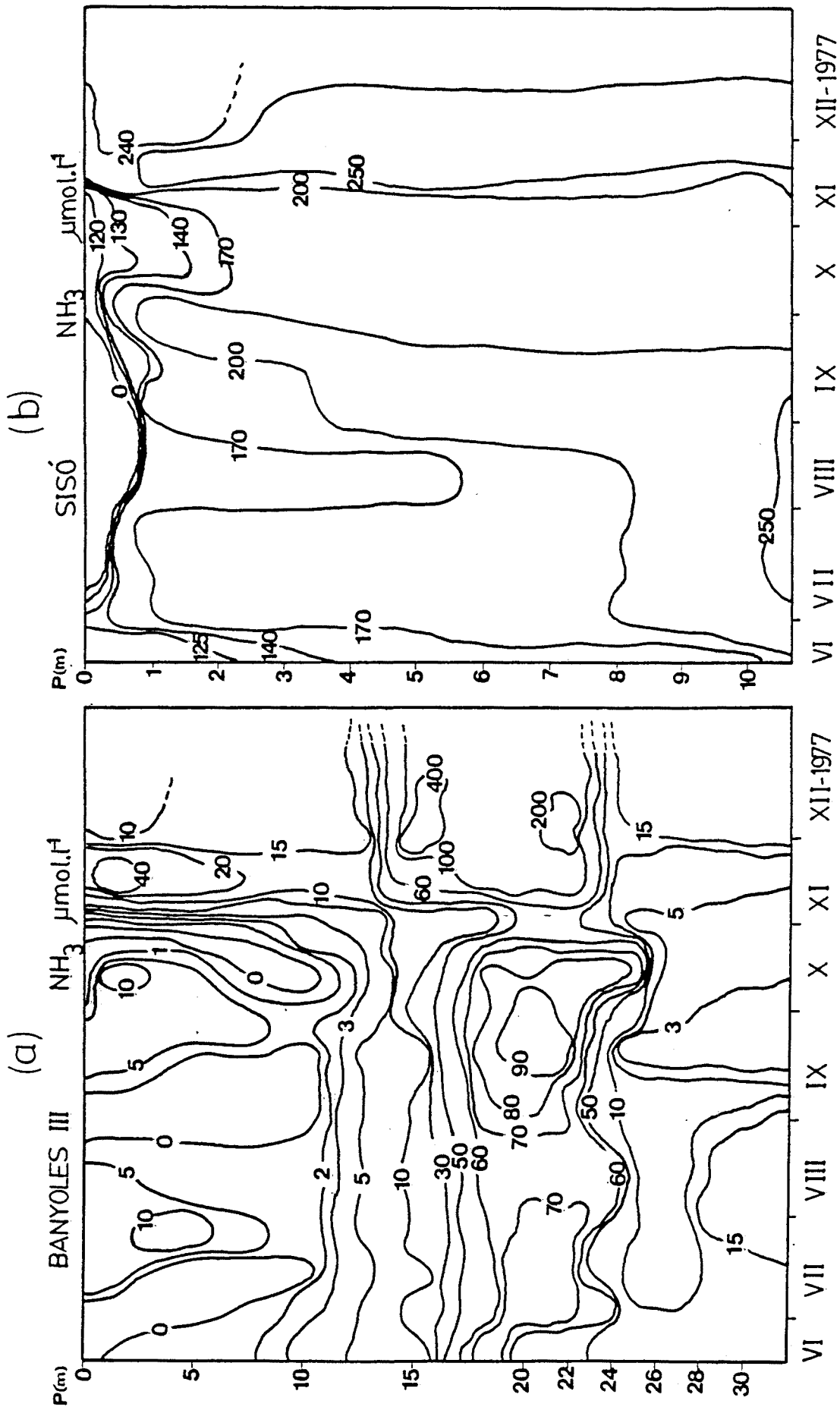


Figura 3.33 Diagramas profundidad-tiempo de las concentraciones estacionales de amonio ( $\mu\text{mol/l}$ ) en (a) Banyoles III (junio-diciembre 1977) y (b) laguna de Sisó (junio-diciembre 1977).

La existencia de máximos de nitritos en el hipolimnion (10-15 m) de Banyoles III (véase la figura 3.32a) durante los meses de junio-julio 1977, seguidos por máximos de nitrato en agosto en las mismas profundidades (véase la figura 3.31a), se puede interpretar por la actividad de bacterias quimiolitotróficas del nitrógeno (Nitrobacteriaceae) que oxidan el amonio, presente en abundancia en el monimolimnion, secuencialmente hasta nitrito y posteriormente hasta nitrato. La acumulación de ambos compuestos en estas capas es posible por la existencia de la termoclina que impide su mezcla con las aguas del epilimnion.

#### Laguna de Sisó

En esta laguna anaerobia se estudió la concentración de amonio durante el periodo comprendido entre junio y diciembre de 1977. La distribución del amonio presenta características distintas a las de Banyoles III (figura 3.33b). En conjunto, los valores medios son superiores a los del mixolimnion de Banyoles III, con máximos absolutos de  $250 \mu\text{mol/l}$ , durante julio-agosto cerca del fondo y en toda la columna durante noviembre-diciembre. La concentración de amonio aumenta progresivamente desde el verano hasta los máximos citados a principios de invierno. Durante el periodo estratificado de junio-octubre la concentración epilimnética ( $140-170 \mu\text{mol/l}$ ) es inferior a la hipolimnética ( $200 \mu\text{mol/l}$ ). A partir de noviembre la columna se mezcla de nuevo y los valores de amonio son elevados ( $250 \mu\text{mol/l}$ ). No se dispone de datos de la concentración de amonio del resto de lagunas (Vilà, Coromines y Negre 1).