

**UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA**

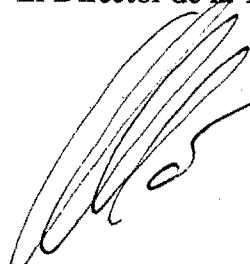
**Institut d'Ecologia Aquàtica  
Estudi General de Girona**

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


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

**Jesús Garcia i Gil**

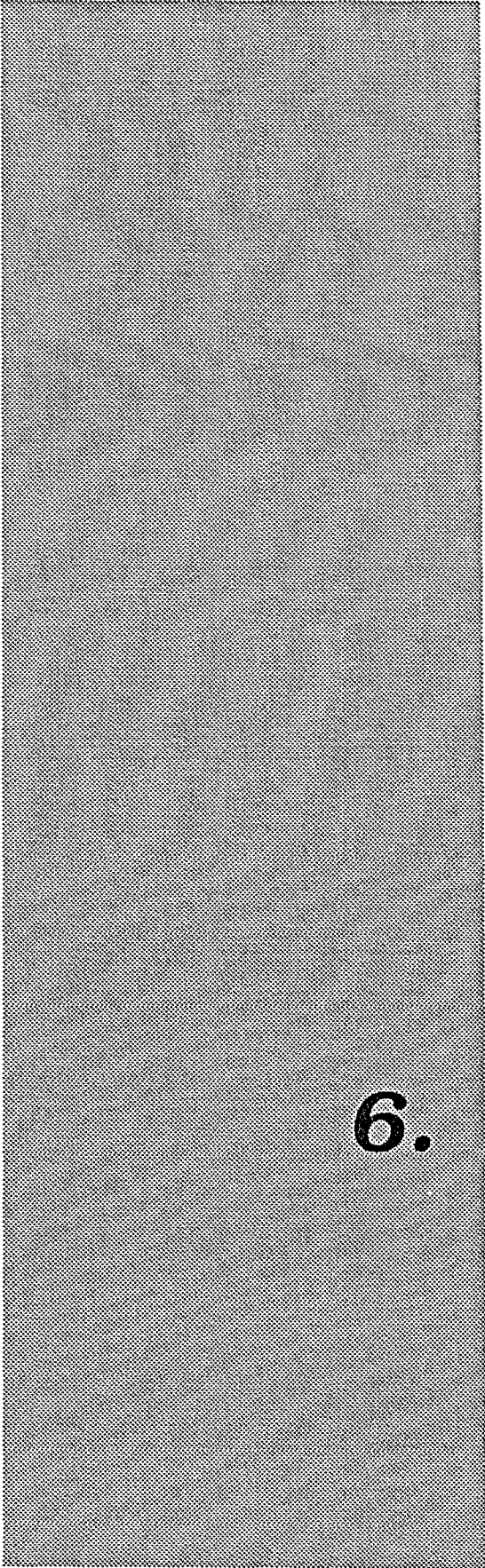
Vist-i-plau,  
El Director de la Tesi



**Dr. Carles Abellà i Ametller**  
Professor Titular de Microbiologia



Girona, juny de 1990



**6. *Ecofisiologia de les  
Clorobiàcies en  
ambients ferrosos***



## 6.1. INTRODUCCIÓ

Els cicles del ferro i del sofre interaccionen en sistemes aquàtics naturals anòxics presentant una dinàmica d'alternança en el temps, sense arribar a ser mútuament excloents.

Si bé les solubilitats que mostren en aquests sistemes anòxics són lleugerament superiors als teòrics, hom ha comprovat com el  $H_2S$  arriba a ser pràcticament indetectable quan la química del sistema està dominada pel ferro i viceversa. Unicament quan al llarg del cicle anyal el  $Fe^{2+}$  és substituït pel  $S^{2-}$  podem trobar concentracions conspícues per a tots dos.

A l'Estany de Banyoles, C-IV mostra una química dominada per la interacció i l'alternància dels cicles esmentats. El  $H_2S$  comença a acumular-se a mitjans de juliol, moment en que el  $Fe^{2+}$  comença a desaparèixer. Aquesta dinàmica de processos químics adquireix relevància, al setembre de 1985 i posteriorment al maig de 1986, des d'un punt de vista de l'ecologia microbiana a partir de l'establiment de poblacions de bacteris fototròfics del sofre, al monimolimnion de C-IV. Concretament *Chlorobium phaeobacteroides*, quan la presència de  $H_2S$  està limitada pel ferro. Aquesta mateixa observació es repetia l'any següent (1987) a l'estanyol del Vilar després d'una mescla hivernal que va destruir la meromixi. La recuperació de la mateixa va determinar processos químics semblants als descrits per a C-IV, pel que fa als cicles del ferro i del sofre, experimentant l'aparició d'una població de *Chlorobium phaeobacteroides* en unes condicions, igual que a C-IV, no gens òptimes per al seu desenvolupament.

Les qüestions que es plantegen estan directament relacionades amb la relació existent entre *Chlorobium* i el ferro, pel que fa a la capacitat que presenta aquest microorganisme per créixer en ambients on el ferro hi és present com a dominant en la química del sistema. Aquesta relació s'estableix tant a nivell ecològic com fisiològic. És generalment acceptat entre els qui treballen amb bacteris fototròfics del sofre que *Chlorobium phaeobacteroides* és una espècie adaptada a condicions de baixa intensitat lumínica i que tolera altes concentracions de sulfhídric (van Gemerden 1984, Brugada 1986, Montesinos & van Gemerden, 1986). Altres espècies, com les pertanyents a la família de les cromatiàcies viuen millor en condicions de baixa concentració de  $H_2S$  (Pfennig, 1975). Per tant cal preguntar-se quins mecanismes fa servir *Chlorobium* per desenvolupar-se sota unes condicions que *a priori* no li són propícies com pot ser la extremadament baixa concentració de sulfhídric. També és important veure quin paper hi juga el ferro en la seva adaptació a

aquestes condicions.

En aquest treball es presenten una sèrie de resultats de camp i experimentals, encadenats al llarg d'un fil conductor format per aspectes no estudiats fins ara de l'ecologia i la fisiologia dels bacteris fototròfics del sofre, amb la finalitat d'obtenir respostes a les qüestions plantejades. No s'han trobat a la bibliografia referències que descriguin situacions comparables. Dissortadament, són relativament poc nombrosos els estudis publicats sobre bacteris fototròfics del sofre, i quasi nuls els que relacionen aquests bacteris amb el cicle del ferro. Unicament Larsen (1953) va fer una sèrie d'estudis sobre la incidència del ferro (en la seva forma oxidada) en el metabolisme dels bacteris fototròfics del sofre, centrant-se en la importància d'aquest metall en el seu creixement. Però es tracta de treballs de laboratori exclusivament i no es fa referència a les implicacions ecològiques dels resultats. Per tant, el contingut del present capítol es discutirà en funció dels resultats d'altres treballs realitzats principalment amb bacteris heteròtrofs.

En aquest darrer grup de microorganismes, és conegut que la càpsula bacteriana, entre altres funcions, protegeix la cèl.lula de l'efecte nociu dels metalls pesants (Aislabie i Loutit 1986, Bitton i Friehofer 1978). A les càpsules de bacteris del ferro com *Leptothrix* o *Sphaerotilus*, es produeix una intensa precipitació d'òxids de ferro i manganès (Davies et al. 1983, Ghiorse 1984). De fet s'ha vist que la càpsula d'espècies com *Methanospirillum hungatei* és electronegativa en algunes parts de la seva estructura, essent capaç d'unir cations divalents metàlics (Beveridge et al., 1988). Espècies com *Methanoxanthus concilii* mostren una gran facilitat per unir  $Fe^{2+}$  a la seva càpsula. Un altre aspecte interessant de la unió del ferro als bacteris és que pot actuar com agent inductor de càpsules ben diferenciades (Ferala et al., 1986). La naturalesa dels precipitats trobats associats amb la superfície bacteriana és molt diversa, variant des de formes col.loïdals d'hidròxids fèrrics fins a formes cristal.lines (Ferris et al. 1989, Ghiorse 1984).

El coneixement sobre el comportament de *Chlorobium* en presència de  $Fe^{2+}$  al medi i la seva aplicació a les observacions realitzades al camp, aporten dades noves sobre l'ecologia fisiològica d'aquest grup bacterià.

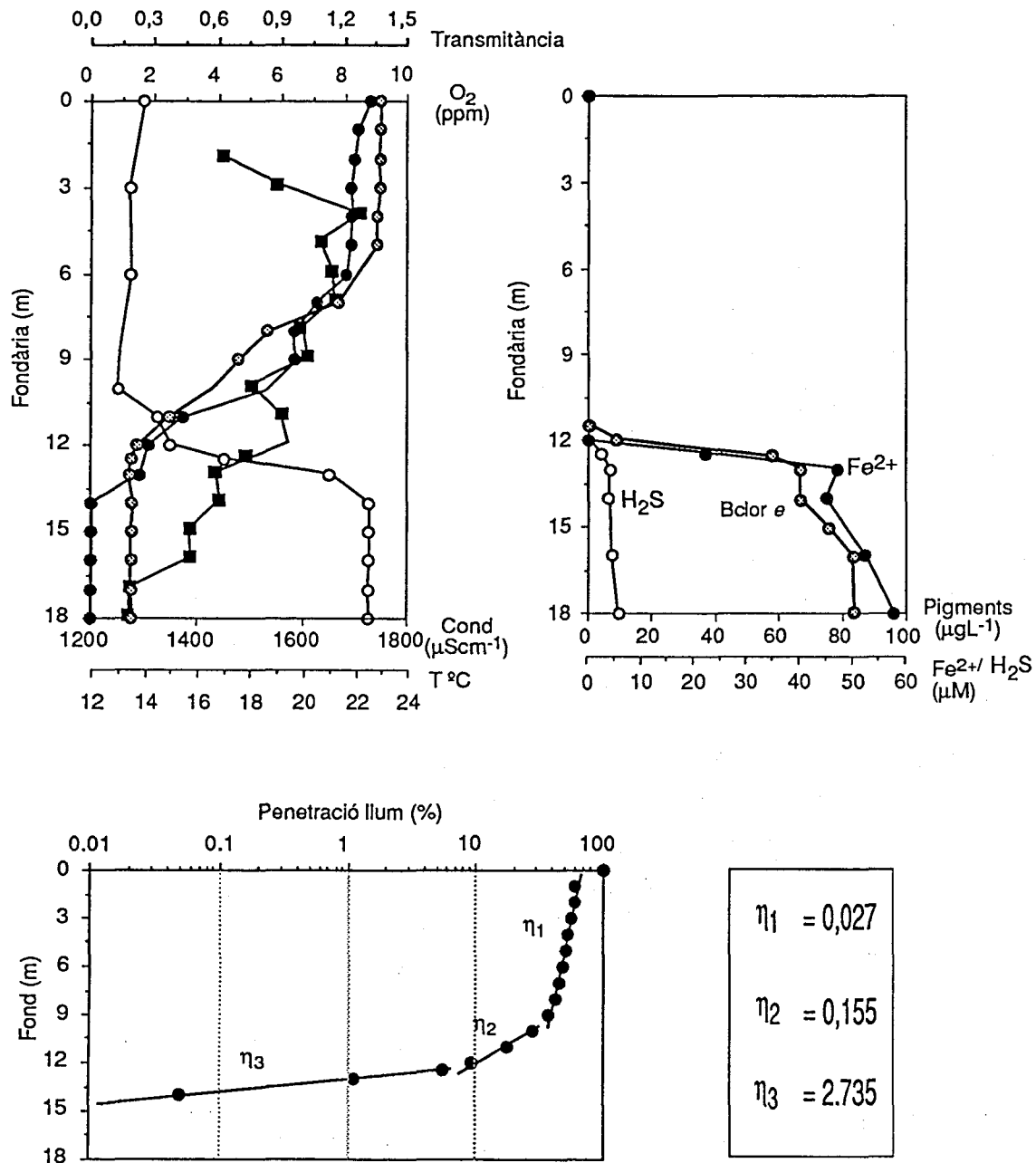
## 6.2. RESULTATS

### 6.2.1. Les poblacions de bacteris fototròfics del sofre i el cicle del ferro

Les primeres observacions a l'estany de Banyoles, del desenvolupament de *Chlorobium* en aigües extremadament pobres en sulfhídric varen tenir lloc a la Cubeta IV l'estiu de 1986. A la figura 6.1 A es mostren les condicions fisico-químiques sota les quals es trobava C-IV, així com la distribució vertical de la població de bacteris fototròfics del sofre. A la data del mostreig, la cubeta estava estratificada tèrmicament i física amb un gradient de temperatura que anava dels 21°C als 7 m fins els 13 °C als 12 m (1.6 °C.m<sup>-1</sup>). Just en aquest punt començava un fort gradient de conductivitat que anava de 1150 µS·cm<sup>-1</sup> als 11 m als 1700 µS·cm<sup>-1</sup> als 13 m. L'oxigen s'extingia al monimolimnion, si bé començava a disminuir tot coincidint amb la termoclina. També s'observà una forta disminució de la transmitància (es a dir, una disminució de la transparència de l'aigua) entre els 12 i 14 m com a reflexe de la població de *Chlorobium phaeobacteroides* que es trobava present en aquell moment. En aquest punt s'observa un fort canvi en el coeficient de penetració de la llum ( $\eta$ ) passant de 0.155 a 2.735 (figura 6.1 B). És especialment remarcable el fet que el H<sub>2</sub>S era indetectable, en tant que la concentració de ferro soluble (Fe<sup>2+</sup>) arribava a valors de 45 µM (figura 6.1 C).

Quant a la distribució vertical de pigments (figura 6.1 D), no hi havia un pic molt ben definit, però s'observa que a la zona il·luminada la concentració de bacterioclorigil·la *e* és de 78 µg·L<sup>-1</sup> que és comparable (si no superior) a la trobada en altres cicles anuals (veure capítol 2).

Les primeres evidències que el ferro podia jugar un paper important en l'estratègia de *Chlorobium* per desenvolupar-se en ambients pobres en sulfhídric es varen obtenir a partir dels estudis realitzats l'estiu de 1987 a l'estanyol del Vilar. Aquest estanyol, consta de dues cubetes amb meromixi crenogènica. Les baixes temperatures de l'hivern anterior varen mesclar completament la columna d'aigua de manera que, amb la recuperació, el ferro va dominar la química del monimolimnion durant un període de temps que va coincidir amb el desenvolupament de *Chlorobium phaeobacteroides*. L'alternància dels cicles del ferro i del sofre fou similar a la descrita ja per C-IV, amb les fases de Hutchinson (veure apartat 3.2.5) ben desenvolupades.



**Figura 6.1.** Distribució vertical de les principals variables fisico-químiques i biològiques a la cubeta IV de l'Estany de Banyoles (Setembre, 1986). **A:** Temperatura (●), conductivitat (○), oxigen (●) i terbolesa (■). **B:** Distribució conjunta de Fe<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>S i Bchl *a*. **C:** Penetració de la llum; s'indiquen els diferents valors dels coeficients de penetració (η) calculats.

**Figure 6.1.** Vertical profiles of main physico-chemical and biological variables in Basin C-IV of Banyoles Lake (September, 1986). **A:** Temperature (●), conductivity (○), oxygen (●) and turbidity (■). **B:** Fe<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>S and Bchl *a*. **C:** Light penetration. Calculated values for the extinction coefficient (η) are indicated.

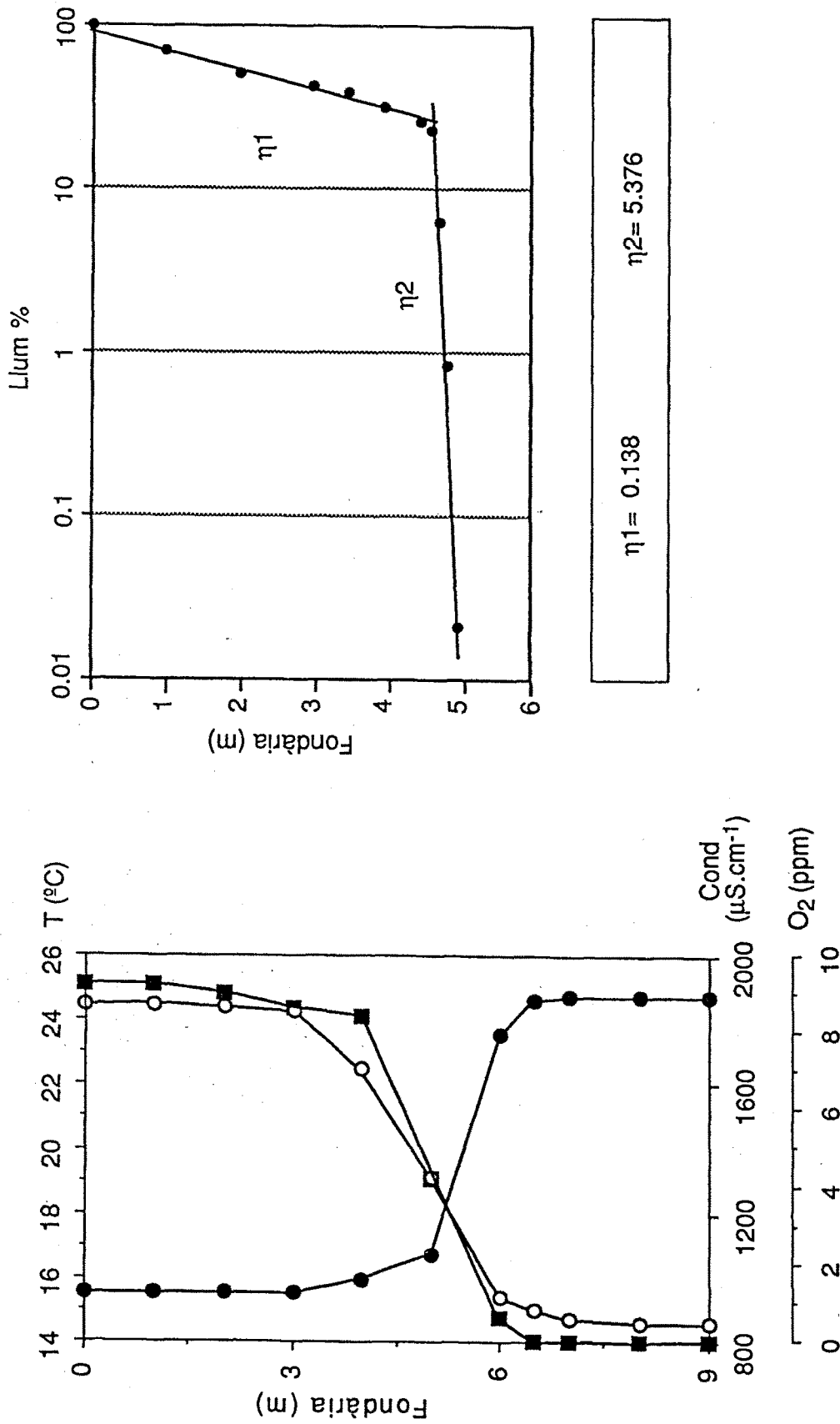


Figura 6.2. Perfils verticals de la temperatura (○), oxigen (□) i conductivitat (●) (esquerra) i penetració de la llum (dreta) a l'Estanyol del Vilar l'estiu de 1987. Figure 6.2. Vertical profiles of temperature (○), oxygen (□) and conductivity (●) (left), and light penetration (right) in Lake Vilar, during summer 1987.

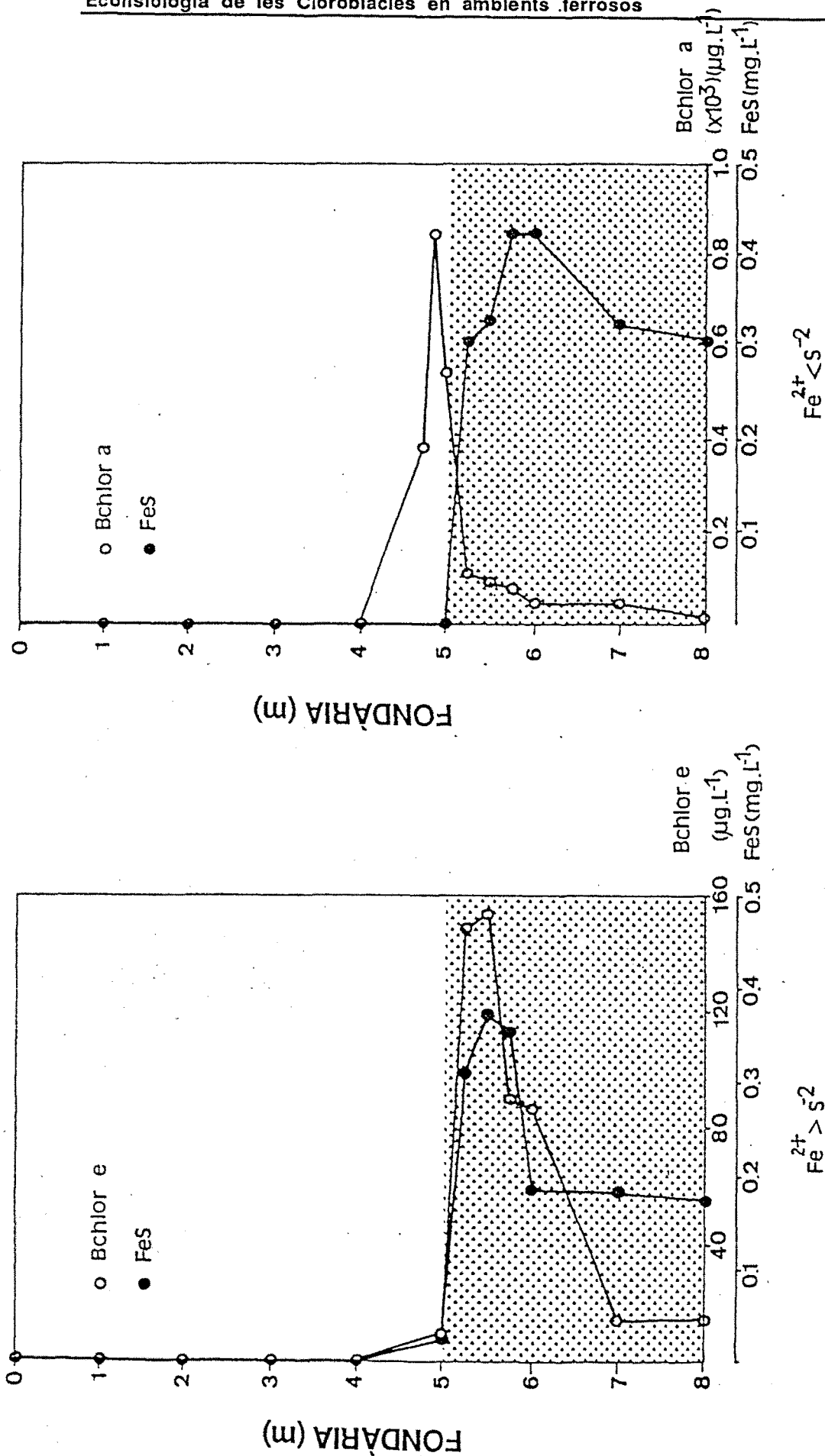


La fisico-química de l'estanyol del Vilar el 10 d'agost de 1987 (figura 6.2) era la pròpia d'una columna d'aigua meromíctica amb una quimioclina situada entre 5 i 6 metres. La conductivitat passava en un metre de  $900 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a  $1800 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . L'oxiclina es situava més amunt, entre els 3 i els 5 metres de fondària, on l'oxigen s'esgotava totalment, coincidint amb la termoclina. Aquestes condicions no varen canviar significativament al llarg de les 8 setmanes que va durar l'estudi. Sí que ho varen fer, en canvi les poblacions de bacteris fototròfics tal com s'ha vist al capítol 2.

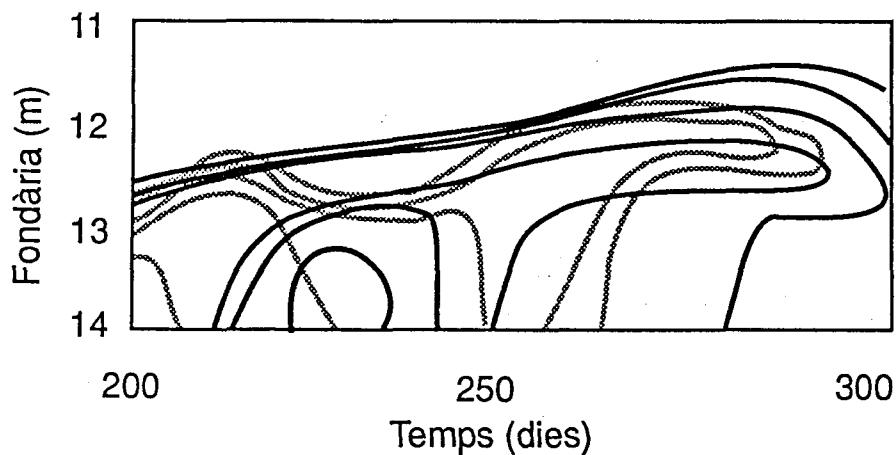
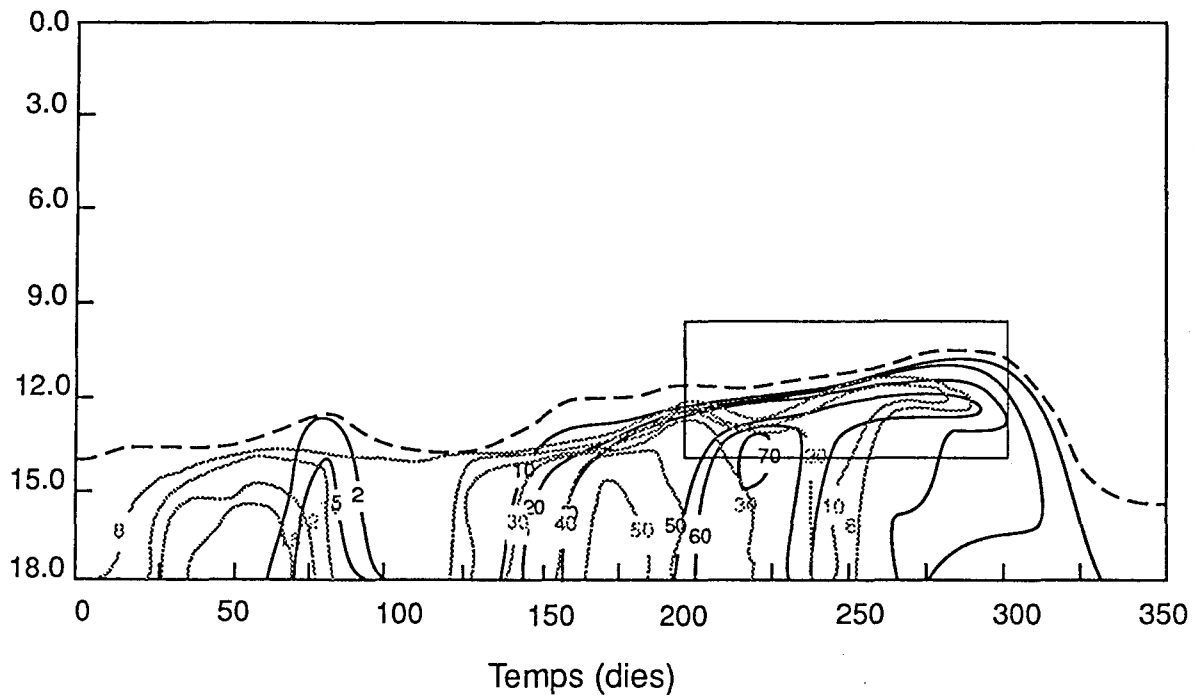
A la figura 6.3 s'observa la distribució conjunta de pigments i ferro mesurat com a FeS. El FeS (*mackinawita*) donava a les mostres d'aigua una tonalitat negra característica, essent responsable de l'alta extinció de la llum trobada a partir de la quimioclina. Els perfils representen dos moments de la dinàmica poblacional dels bacteris fototròfics a l'estiu de 1987. Inicialment (A) quan el  $\text{Fe}^{2+}$  domina la química del monimolimnion, l'espècie dominant és *Chlorobium phaeobacteroides*. Es pot apreciar com el FeS i la concentració de Bclor *e* segueixen un mateix patró de distribució vertical, presentant ambdós un màxim entre 5 i 5.5 m de fondària. Al final de l'estiu, la situació en relació a la població dominant de bacteris fototròfics era ben distinta (B). S'observa un màxim molt marcat de Bclor *a* corresponent a una població de *Chromatium minus*, mentre que el FeS es distribueix sense relació aparent amb els pigments. A més, no s'observa un màxim tan pronunciat com dos mesos abans. La concentració de  $\text{H}_2\text{S}$  ultrapassava la de  $\text{Fe}^{2+}$  i la concentració de FeS prop del sediments era més alta, indicant una dinàmica de precipitació neta de FeS cap el sediments.

La coexistència dels màxims de Bclor *e* i FeS es repeteix a la cubeta IV. Allí,  $\text{Fe}^{2+}$  i Bclor *e* no solsament coincideixen a l'espai sinó també en el temps. Això es pot comprovar a la figura 6.4. on es mostra la distribució espai-temporal conjunta del  $\text{Fe}^{2+}$  i de Bclor *e*. Es pot veure com existeix un mateix patró de distribució d'ambdúes variables, presentant un màxim que es perllonga en el temps a modus de "llengua", trencada per la mescla hivernal de la columna d'aigua. A la resta del monimolimnion el  $\text{Fe}^{2+}$  ha estat eliminat pel  $\text{H}_2\text{S}$  per precipitació de FeS.

Altres distribucions conjuntes, mesurades a diferents cubetes de l'Estany de Banyoles (figura 6.5), venen a confirmar allò descrit fins el moment. Tant a C-III com a C-IV existeix un paral·lelisme entre les distribucions verticals de les clorobiàcies i el ferro.



**Figura 6.3.** Perfils verticals de pigments (bacterioclorofil·les e i a) i FeS a l'Estanyol del Vilar (estiu de 1987). Observi's la correlació entre els perfils de bclor e i FeS (A). Les Cromatiàcies (B) semblen distribuir-se independentment del FeS.  
**Figure 6.3.** Vertical profiles of pigments (bacteriochlorophyll e and a) and FeS. Notice the correlation between Bchlora e and FeS profiles (A). Chromatiaceae (B) seem to distribute independently of FeS?



**Figura 6.4.** Distribució espai-temps conjunta de ferro (línia gris) i Bacteriochlorofil.*la e* (línia negra) a la cubeta IV de l'Estany de Banyoles de gener a desembre de 1988. Observi's en l'ampliació la similitud en la forma que prenen les isolínies a finals de l'estiu / principis de tardor (dies 240 a 300). **Figure 6.4.** Spatial-temporal distribution of iron (gray line) and Bacteriochlorophyll *e* (solid line) in Basin IV of Banyoles Lake, from January till December 1980. In a closer view (below) notice the similar shape of the isoplethes in late summer / early fall (days 240 to 300).

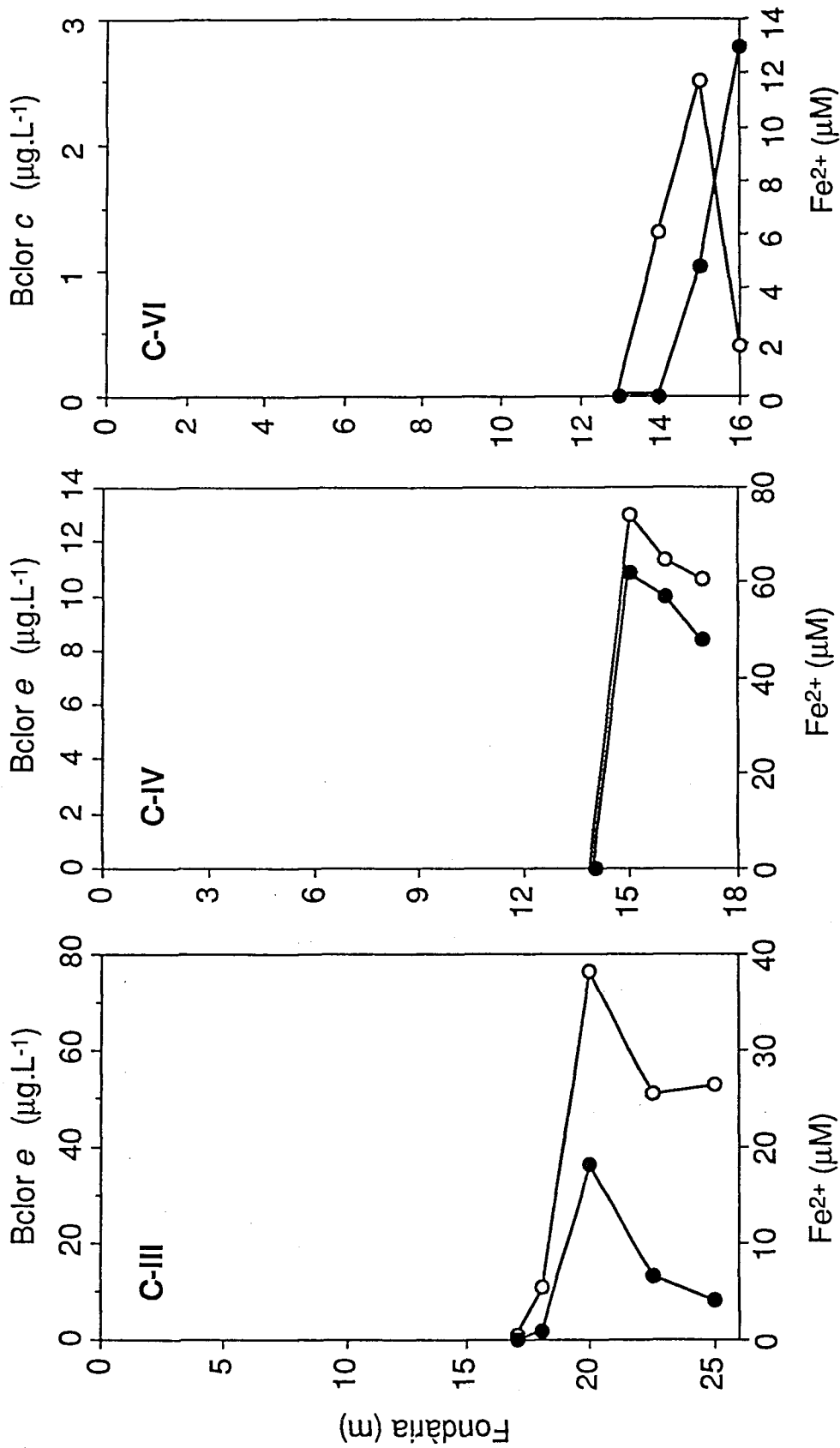
### 6.2.2.. Estudi de la unió del ferro als bacteris. Microscòpia òptica i electrònica.

Les poblacions de bacteris fototròfics del sofre, molt especialment les Chlorobiàcies, mostren distribucions conjuntes amb el ferro, que es verifiquen a l'espai i el temps. Calia veure si aquesta aparent relació s'establia a la part externa de les cèl.lules o pel contrari es tractava d'un producte dissolt a l'aigua que coincidí en la seva distribució amb les poblacions de bacteris fototròfics.

S'han fet estudis de microscòpia electrònica, tant de transmissió com d'escandallatge, per tal de veure si existeix o no la unió física entre el ferro i la cèl.lula. Experiments previs a aquestes observacions ja mostraven evidències que el ferro soluble es mantenia adsorbit a les cèl.lules quan aquestes creixien en medis rics en  $Fe^{2+}$  (veure més endavant). També s'han adaptat tècniques especials de tinció del ferro per microscòpia òptica. Tant en microscòpia òptica com electrònica s'han obtingut proves que demostren una estreta relació física entre les estructures externes de les cèl.lules i el ferro.

A la figura 6.6 es mostren dues micrografies obtingudes amb el microscopi òptic, a partir de l'aplicació a suspensions de *Chlorobium phaeobacteroides* de la coloració de Turnbull (veure material i mètodes) que dona tonalitat blava a les estructures que contenen ferro. S'observa la formació d'aglomeracions bacterianes en forma de microcolònies que porten associada una intensa coloració blava. L'absència de coloració fora de les agrupacions bacterianes enforteix la idea d'una relació física entre el ferro i les cèl.lules, la qual és una resposta positiva a la tinció del ferrocianat. Ghiorse i Hirsch (1978), consideren aquest resultat com a prova definitiva de la unió del ferro a les cèl.lules.

L'estudi al microscopi electrònic tant de transmissió (MET) com d'escandallatge (MEE), ofereix una visió molt més clara de l'estreta relació existent entre el ferro i les cèl.lules. A la figura 6.7 es mostra una visió de la superfície cel.lular al MEE on s'observa la presència de petites granulacions distribuïdes uniformement. La discontinuïtat que presenta aquesta distribució pot fer pensar amb l'existència de zones carregades negativament i localitzades a l'exterior de la cèl.lula (Beveridge et al., 1988). Més endavant (apartat 3.3.2) es discuteix la presència d'aquestes granulacions i les possibles implicacions metabòliques i fisiològiques que puguin tenir en el desenvolupament dels bacteris fototròfics.



**Figura 6.5.** Distribució vertical de Fe<sup>2+</sup> (●) i pigments (○) dels bacteris fototròfics del sofre a C-III, C-IV i C-VI. Bacterioclorsofil·les (Bclor) e i c corresponen a poblacions de *Chlorobium phaeobacteroides* i *Chlorobium limicola* respectivament. **Figure 6.5.** Vertical distribution of Fe<sup>2+</sup> (●) and pigments (○) of phototrophic sulfur bacteria in C-III, C-IV and C-VI. Bacterioclorsophylls (Bclor) e and c correspond to populations of *Chlorobium phaeobacteroides* and *Chlorobium limicola* respectively.



**Figura 6.6.** **A:** Visió general d'una suspensió de *Chlorobium phaeobacteroides* amb ferro. Coloració de Turnbull. (x 100). **B:** Detall d'una microcolònia; el ferro apareix de color blau (x 400)  
**Figure 4.6.** **A.** General view of a suspension of *Chlorobium phaeobacteroides*. Turnbull staining. (x 100); **B:** detailed view of a microcolony; iron appears blue coloured (x 400)

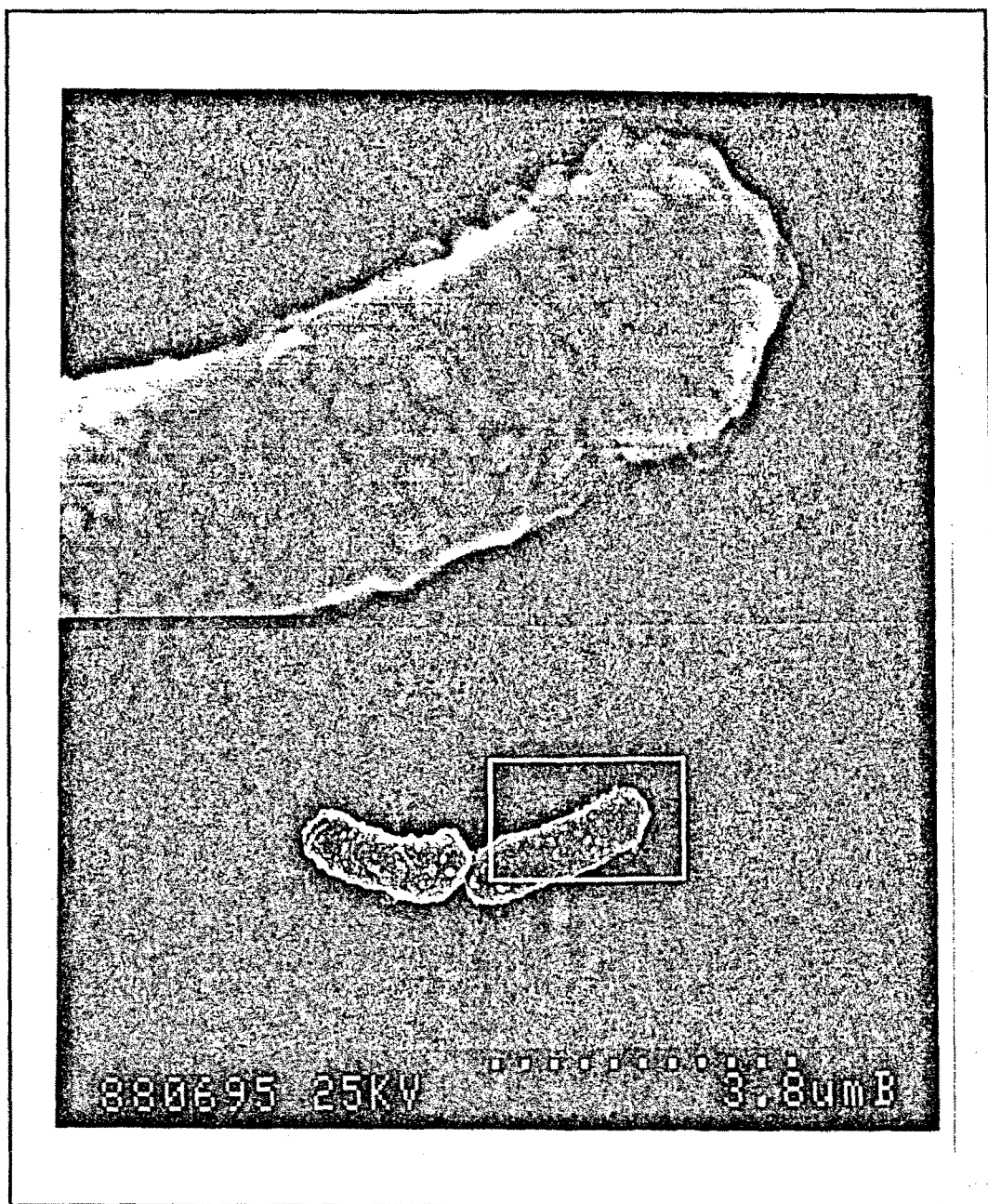
A la figura 6.8 es pot observar una micrografia de *Chlorobium phaeobacteroides* realitzada amb el microscopi electrònic de transmissió, on pot apreciar-se l'acumulació a tot el volt de la cèl.lula de granulacions electrodenses. Aquestes granulacions podrien relacionar-se amb les observades a la figura anterior. La granulació pot induir problemes a l'hora d'efectuar els talls ultrafins, fent que aquests presentin trencaments, tal i com s'observa a altres treballs que també estudien la deposició de ferro a l'exterior de les cèl.lules (Tuovinen i Nurmiäho, 1979). EL material amorf i menys electrodens que s'observa pot ser degut a restes d'una cèl.lula trencada o a productes d'excreció bacteriana.

Les micrografies de les cèl.lules tractades amb ferritina no mostren una coberta de granulacions electrodenses a l'exterior (figura 6.9). Això suggereix una certa especificitat d'aquests bacteris envers el  $Fe^{2+}$ . Cal tenir en compte, però que la ferritina incorpora ferro en la seva forma oxidada, el qual possiblement no té opció d'unirse a l'envolta bacteriana. Un altre aspecte a destacar del tractament amb ferritina és l'aparició d'uns grànuls molt densos als electrons a l'interior d'algunes cèl.lules. Aquest és un element diferencial que no apareix al tractament amb FeS. Hom desconeix les relacions que puguin existir entre aquestes concrecions intracel.lulars i l'addició al medi de ferritina i més tenint en compte que presenten un aspecte molt similar als grànuls de polifosfats que de vegades es poden veure a l'interior d'alguns bacteris fototròfics.

Les figures 6.8 i 6.9 poden comparar-se amb una imatge de *Chlorobium* que no ha entrat en contacte amb el ferro (figura 6.10). D'aquest estudi microscòpic hom pot deduir que el ferro soluble modifica la estructura externa de la cèl.lula unint-se en zones discontinües distribuïdes uniformement per la superfície cel.lular.

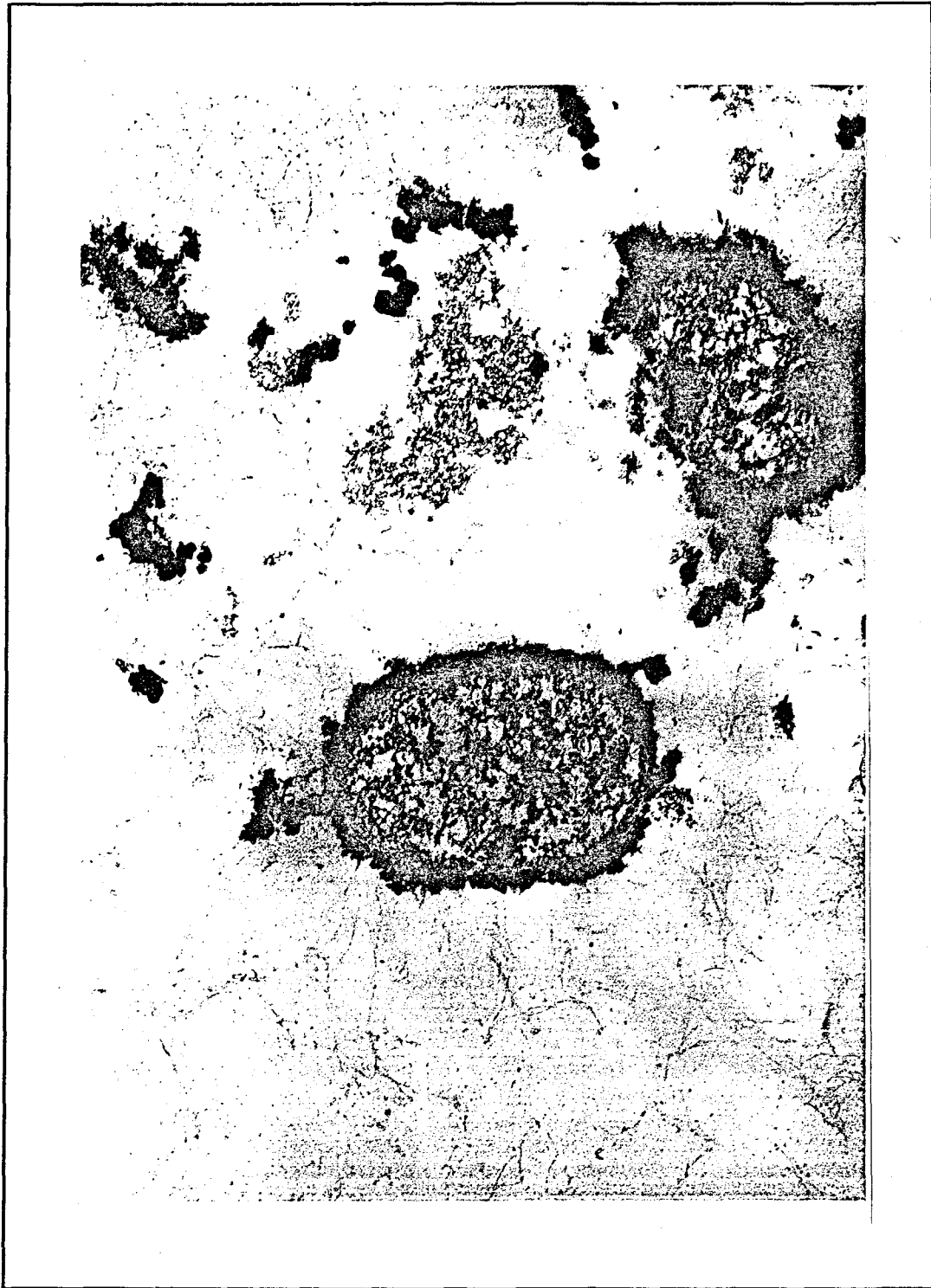
### 6.2.3.. Les clorobiàcies en ambients ferrosos

Com s'ha vist, l'aparició conjunta de ferro i bacteris fototròfics del sofre a la columna d'aigua, tant de l'Estanyol del Vilar com de C-IV, sempre anava associada a espècies de la família de les Clorobiàcies. Als dos llocs esmentats la família estava representada per *Chlorobium phaeobacteroides*. A altres llocs com la Laguna de La Cruz al municipi de Cañada del Hoyo, Conca, a les altes concentracions de ferro sempre hi ha associada una població de *Pelodictyon chlathratiforme* (Vicente, comunicació personal). D'altra banda, les Cromatiàcies no semblen estar associades de manera tant estreta al ferro. Per tal motiu, el present estudi fa referència exclusivament a la fisiologia de

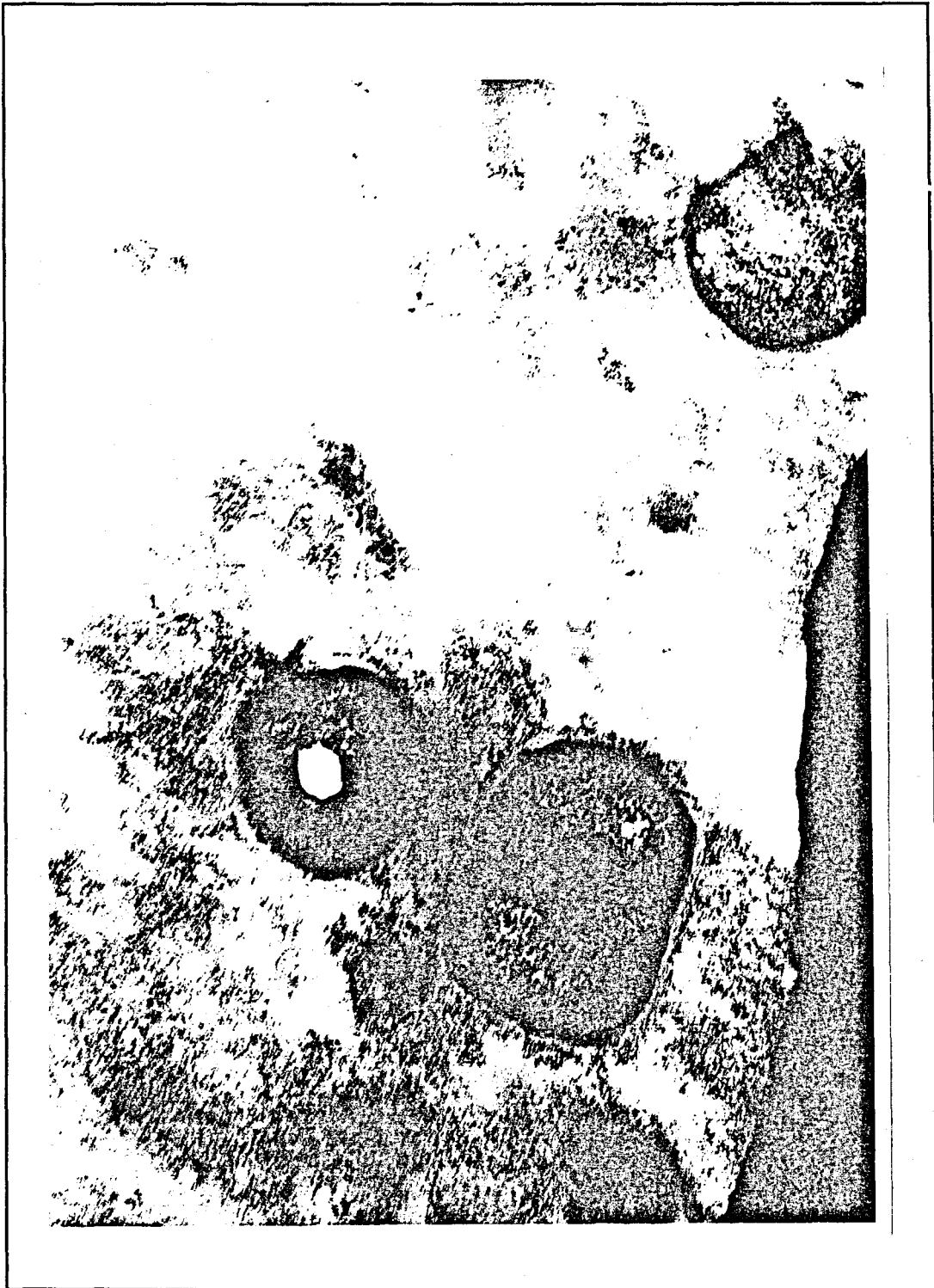


**Figura 6.7.** **A:** Aspecte general de dues cèl.lules de *Chlorobium phaeobacteroides* **B:** Porció ampliada on s'observen les granulacions externes.  
**Figure 6.7.** **A:** General view of two cells of *Chlorobium phaeobacteroides*. **B:** A closer view of granulations attached to the outside of the cell.





**Figura 6.8.** Secció ultrafina de *Chlorobium phaeobacteroides* amb FeS unit a l'exterior de la cèl.lula. **Figure 6.8.** Thin section of *Chlorobium phaeobacteroides* with attached FeS outside the cell.



**Figura 6.9.** Secció ultrafina de *Chlorobium phaeobacteroides*, amb ferritina al medi. **Figure 6.9.** Thin section of *Chlorobium phaeobacteroides* with ferritine.

les clorobiàcies, sense descartar que les Cromatiàcies puguin comportar-se de la mateixa manera en ambients que contenen ferro.

En aquest apartat hom presenta un seguit d'experiments i assatjos que tenen a veure amb el creixement dels bacteris fototròfics del sofre en condicions en les que el ferro està present en el medi on es desenvolupen.

#### 6.2.3.1. Utilització del $Fe^{2+}$

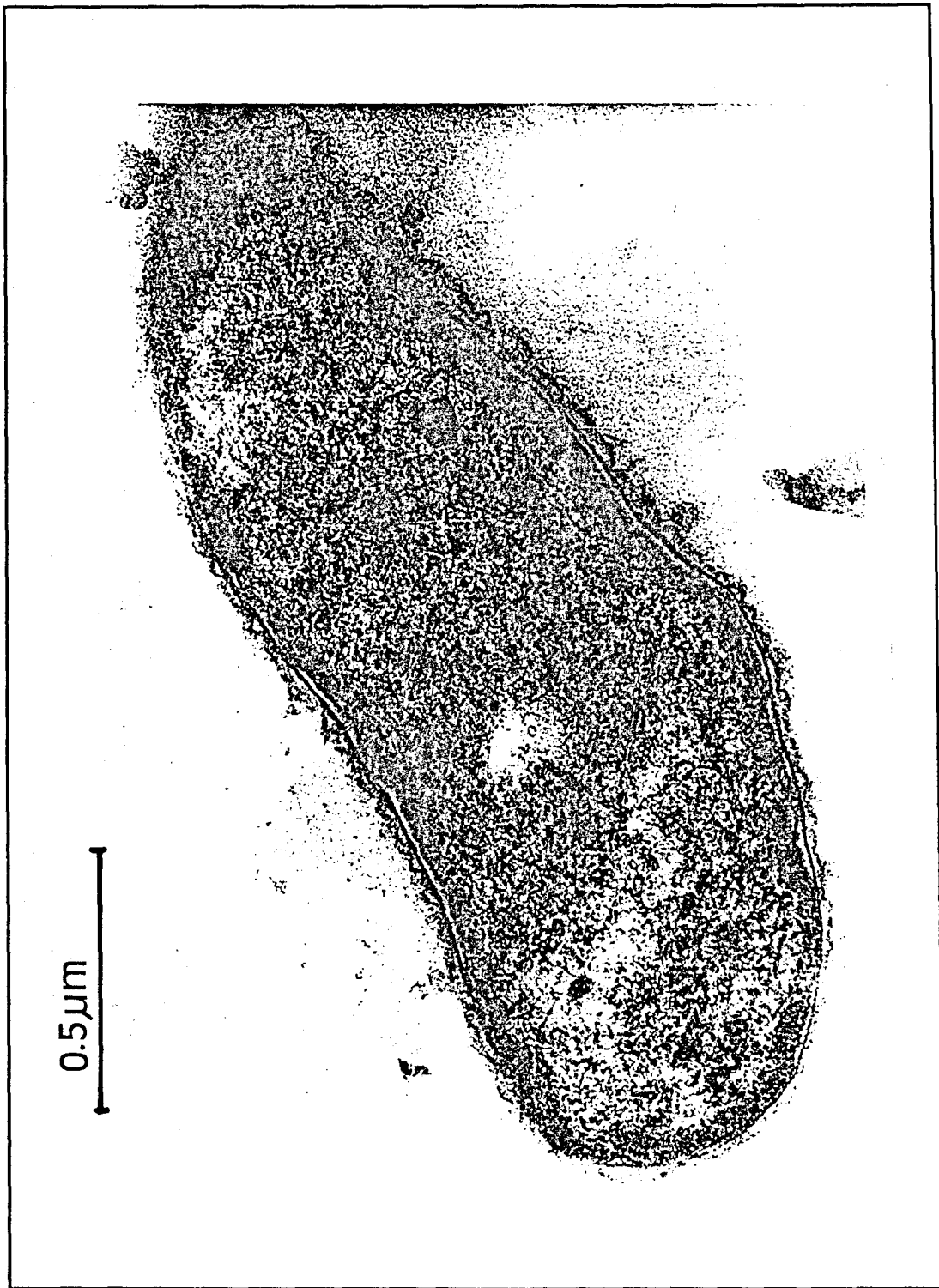
Els primers assatjos es van fer amb mostres preses directament al camp (principalment a la cubeta IV de l'Estany de Banyoles) per tal de veure si el  $Fe^{2+}$  participava en el metabolisme fotosintètic dels bacteris fototròfics del sofre (donador d'electrons). Es van incubar a la llum tres mostres corresponents a tres fondàries diferents de C-IV on hi havia una població de *Chlorobium phaeobacteroides*. Es realitzaren dos controls per a cada mostra. Un control era inactivat amb NaCl al 10 % (Brock, 1975) per tal d'eliminar els canvis produïts per reaccions químiques. Altres substàncies, especialment les orgàniques, utilitzades comunment per neutralitzar l'activitat biològica, formen complexos químics amb el  $Fe^{2+}$  alterant la composició del cultiu. L'altre control, era una botella incubada a les fosques (tapada amb paper d'alumni) per veure la possible incidència de metabolismes heterotrofs.

Les mostres foren incubades a la llum durant quatre dies passats els quals es va mesurar la concentració de ferro.

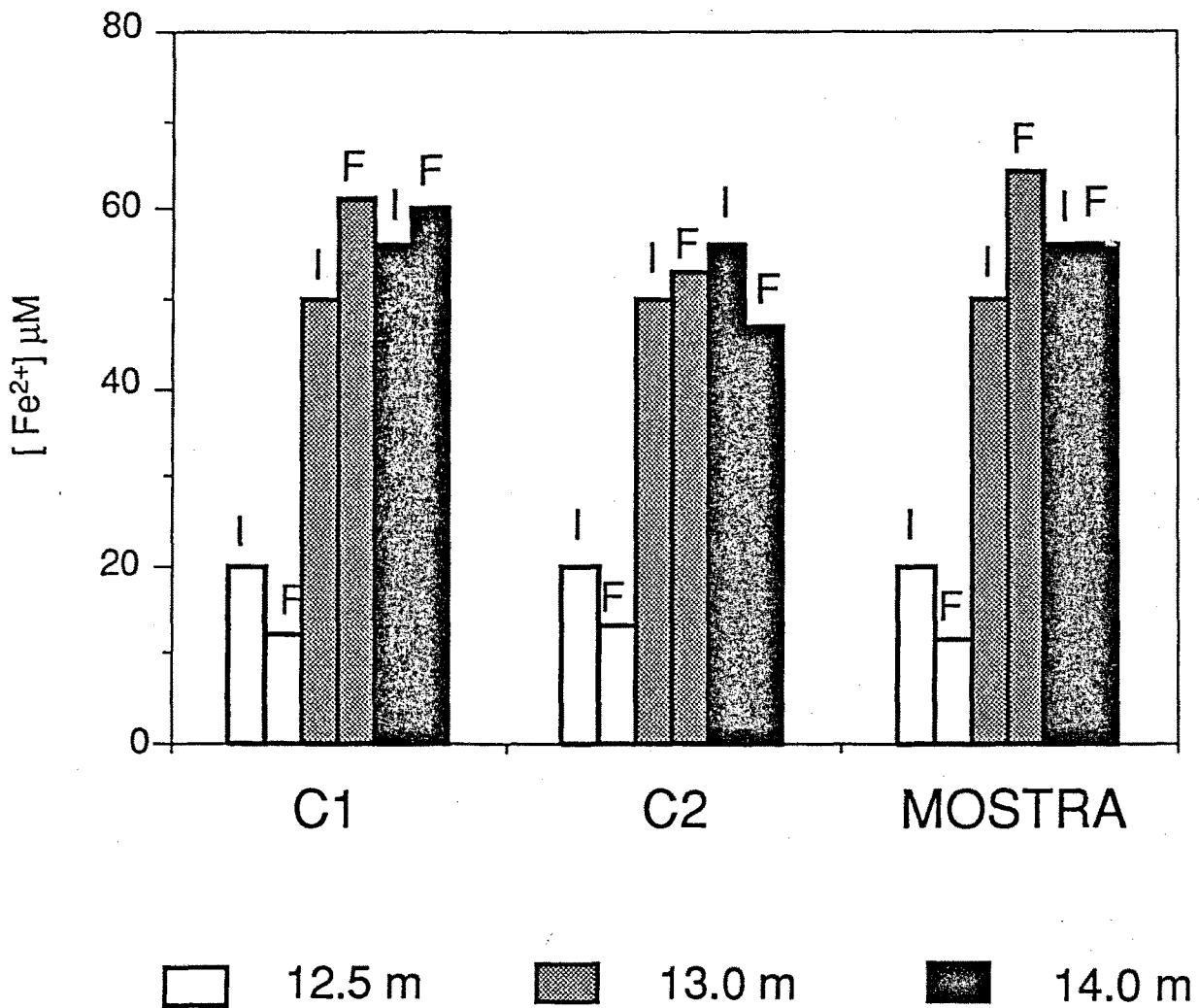
Els resultats es mostren a la figura 6.11. En ella es pot observar com la concentració de  $Fe^{2+}$  es manté invariable a totes les mostres amb independència del tractament que reben, la qual cosa vol dir que aquest ió no intervé directament en l'activitat fotosintètica dels bacteris fototròfics.

#### 6.2.3.2. Utilització del FeS

Un experiment posterior va aportar indicis sobre la utilitat real del ferro per als bacteris. Prèviament hom havia observat que les mostres de camp s'enfosquien després d'afegir una solució de  $Na_2S$  a l'ampolla, com a conseqüència de la formació de FeS. Es volia veure si el FeS format podia aportar l'ió sulfur necessari per al metabolisme fototròfic dels bacteris. A tal efecte es va incubar una mostra de camp, a la qual se l'hi havia afegit  $Na_2S$ . Un control fou incubat a les fosques. S'analitzà el FeS i el  $Fe^{2+}$  de cada una de les mostres al llarg de tres dies.



**Figura 6.10.** Secció ultrafina de *Chlorobium phaeobacteroides*. (Esteve 1981)  
**Figure 6.10.** Thin section of *Chlorobium phaeobacteroides*. (From Esteve 1981)



**Figura 6.11.** Concentracions de  $\text{Fe}^{2+}$  en mostres d'aigua de C-IV, corresponents a diferents fondàries, abans (I) i després (F) d'incubar-se a la llum per un període de 4 dies. **C1:** control posat a les fosques; **C2:** control inactivat (addició de NaCl 10 %). **Figure 6.11.**  $\text{Fe}^{2+}$  concentrations in C-IV water samples, taken at different depths, before (I) and after (F) incubation at light during four days. **C1:** Dark control; **C2:** dead control (10 % NaCl)

La figura 6.12 mostra com les concentracions de  $\text{Fe}^{2+}$  es mantenen constants tant per al control com per la mostra confirmant l'experiment anterior. El FeS mesurat va desaparèixer al llarg del temps a la mostra no tractada mentres que es va mantenir invariable a la mostra inactivada. Aquest resultat indica que el sulfur en forma de FeS desapareix d'un medi il·luminat on hi ha *Chlorobium*.

#### 6.2.3.3. FeS i fotosíntesi

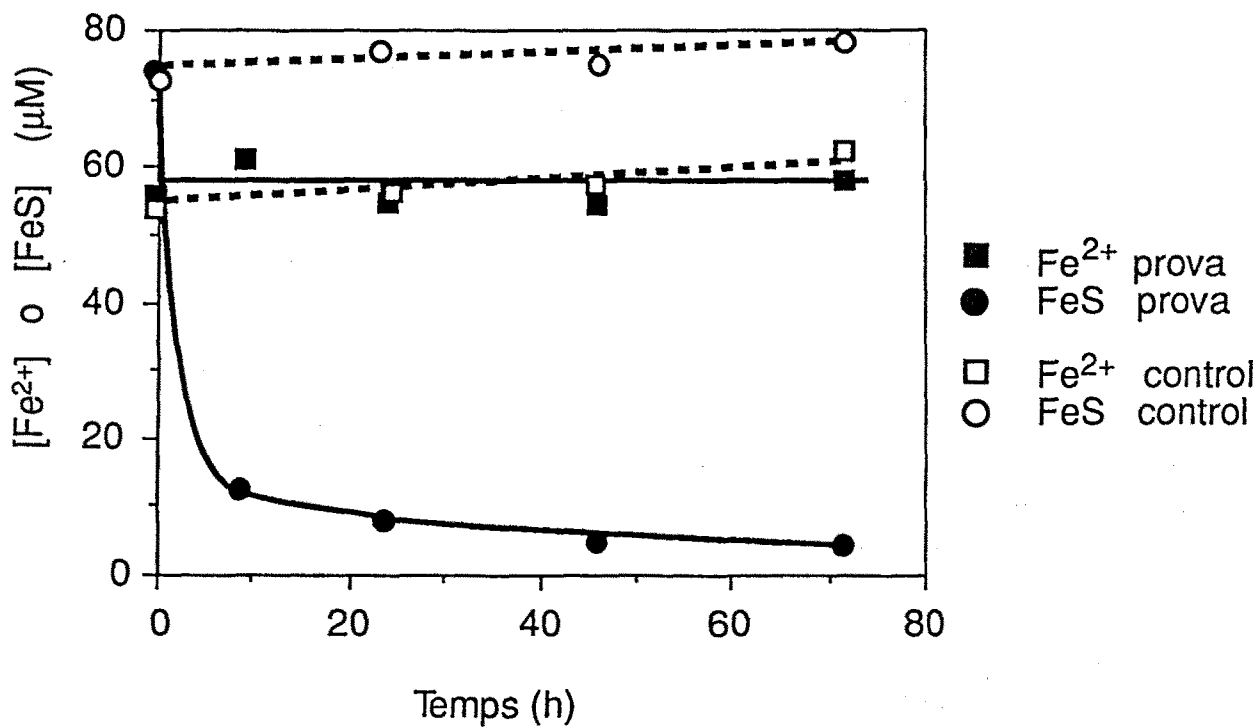
Després de veure que el FeS desapareix d'una mostra de camp en presència de llum i de bacteris fototròfics, es va fer un experiment per demostrar que la clarificació del medi, és a dir, l'oxidació del FeS era un procés que estava lligat exclusivament a l'activitat fotosintètica dels bacteris. Hom considera que el medi es clarifica quan després de la incubació torna a adquirir el seu color inicial, perdent el color negrós característic del FeS (figura 6.13). Per a demostrar això calia controlar la possibilitat que el medi es clarifiqués per una oxidació química (per entrada d'oxigen a la botella) o per una fotooxidació no biològica. A tal efecte es varen posar a incubar dos cultius purs de *Chlorobium phaeobacteroides* amb 0.5 mM de FeS, un d'ells preservat de la llum. Paral·lelament s'incubaren dues ampolles amb medi *Pfennig* i 0.5 mM de FeS, una de les quals estava també preservada de la llum. Les condicions de cultiu i els resultats es mostren esquematitzats a la figura 6.14. El medi només es va clarificar en la botella que contenia *Chlorobium* i estava il·luminada. En canvi, a les altres tres botelles el medi no va sofrir canvis aparents. Aquest experiment mostra que el cultiu es clarifica quan *Chlorobium* hi és present amb llum, no fent-ho en els següents casos:

(B).- Presència de *Chlorobium* i absència de llum, eliminant la possibilitat que ho faci amb metabolisme heterotrof a les fosques.

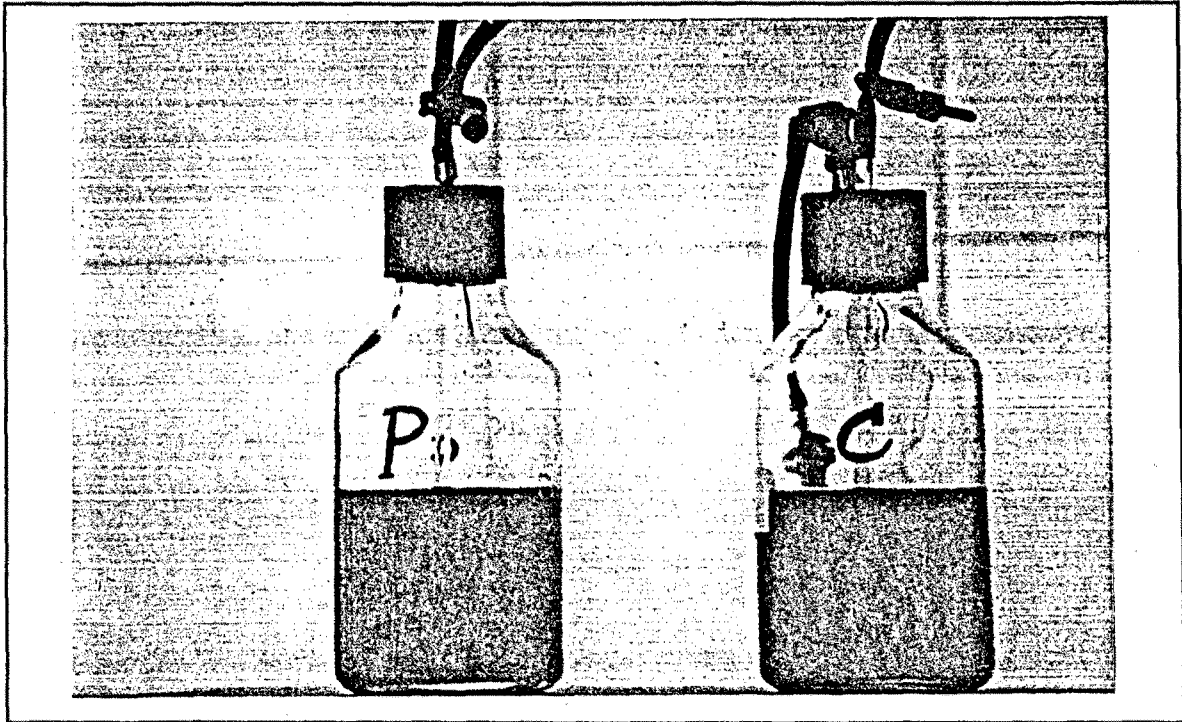
(C).- Absència de *Chlorobium*, amb llum: es descarta la possibilitat d'una fotooxidació no biològica.

(D).- Absència de *Chlorobium* i de llum: indica que no hi ha oxidació química amb l'oxigen que podria haver entrat de no estar ben tapades les botelles. S'havia observat que el FeS posat en contacte amb l'aire s'oxidava en poques hores, i la suspensió perdia el color negre.

Una vegada conclòs l'experiment, l'addició al medi de cultiu de  $\text{H}_2\text{S}$  feia que aquest es tornés a enfosquir, indicant que el ferro es trobava en forma  $\text{Fe}^{2+}$  i era encara reactiu. Per tal de saber si aquest ferro, una vegada clarificat el cultiu, s'alliberava al medi o pel contrari quedava retingut a les cèl·lules, es varen incubar dos cultius amb *Chlorobium* un dels quals es va preservar de



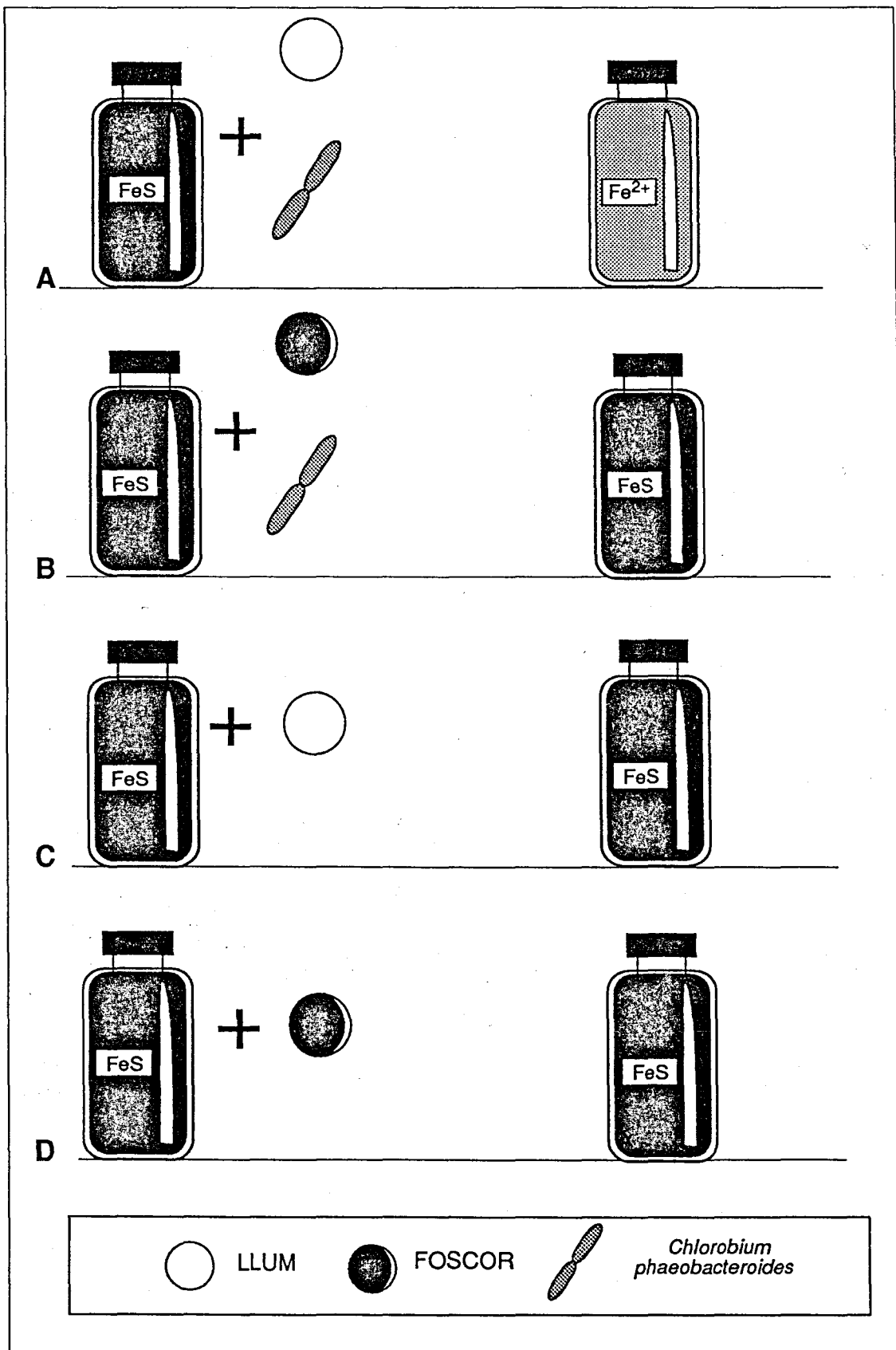
**Figura 6.12.** Evolució al llarg del temps de la concentració de  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{FeS}$  en mostres de C-IV preses a 13 metres de fondària (18 setembre 1986) i incubades a la llum. Línies de punts : control incubat a les fosques. **Figure 6.12.** Time course of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{FeS}$  concentrations in field samples of C-IV (18 september, 1986), taken at 13 meters depth and incubated with light. Dotted line: control at dark conditions.

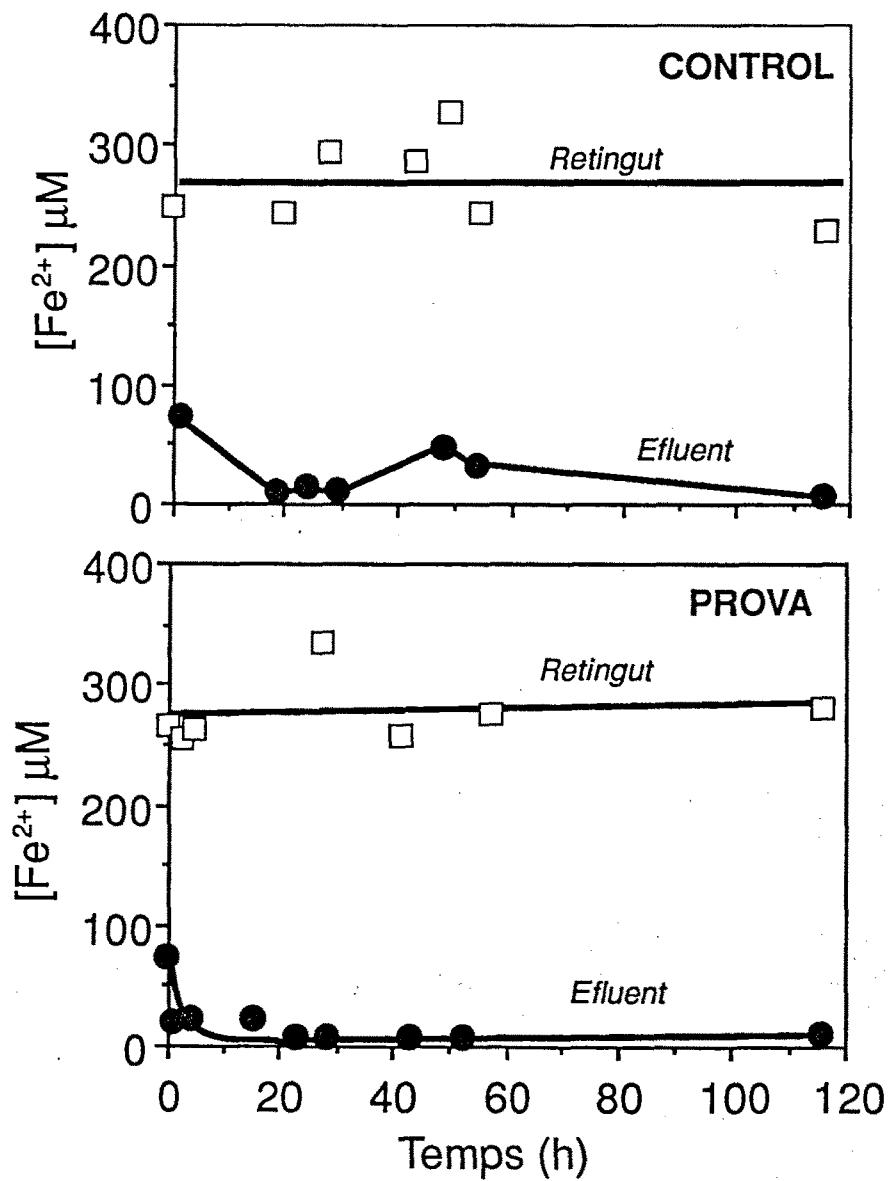


**Figura 6.13.** Dos cultius de *Chlorobium phaeobacteroides* incubats a la llum (P) i a les fosques (C). **Figure 4.13.** Two cultures of *Chlorobium phaeobacteroides* incubated at light (P) and dark (C) conditions.



**Figura 6.14.** Experiment de clarificació de medi Pfennig amb FeS com a font d'ió sulfur. **A:** Incubació a la llum amb *Chlorobium phaeobacteroides*. **B:** Incubació a les fosques amb *Chlorobium phaeobacteroides*. **C:** Incubació a la llum sense microorganismes (medi estèril). **D:** Incubació a les fosques sense microorganismes (medi estèril). Només en el cas **A** el medi es clarifica, suggerint que aquest procés només es produeix a causa de l'activitat fotosintètica de *Chlorobium phaeobacteroides*. **Figure 6.14.** Clarification of Pfennig's medium containing FeS as sole sulfide source. **A:** Incubation under light conditions with *Chlorobium phaeobacteroides*. **B:** Incubation in the dark with *Chlorobium phaeobacteroides*. **C:** Incubation under light conditions without microorganisms (sterile culture medium). **D:** Incubation in the dark without microorganisms (sterile culture medium). Only in the first case (**A**) the culture medium is clarified, suggesting that this process is only produced by photosynthetic activity of *Chlorobium phaeobacteroides*.





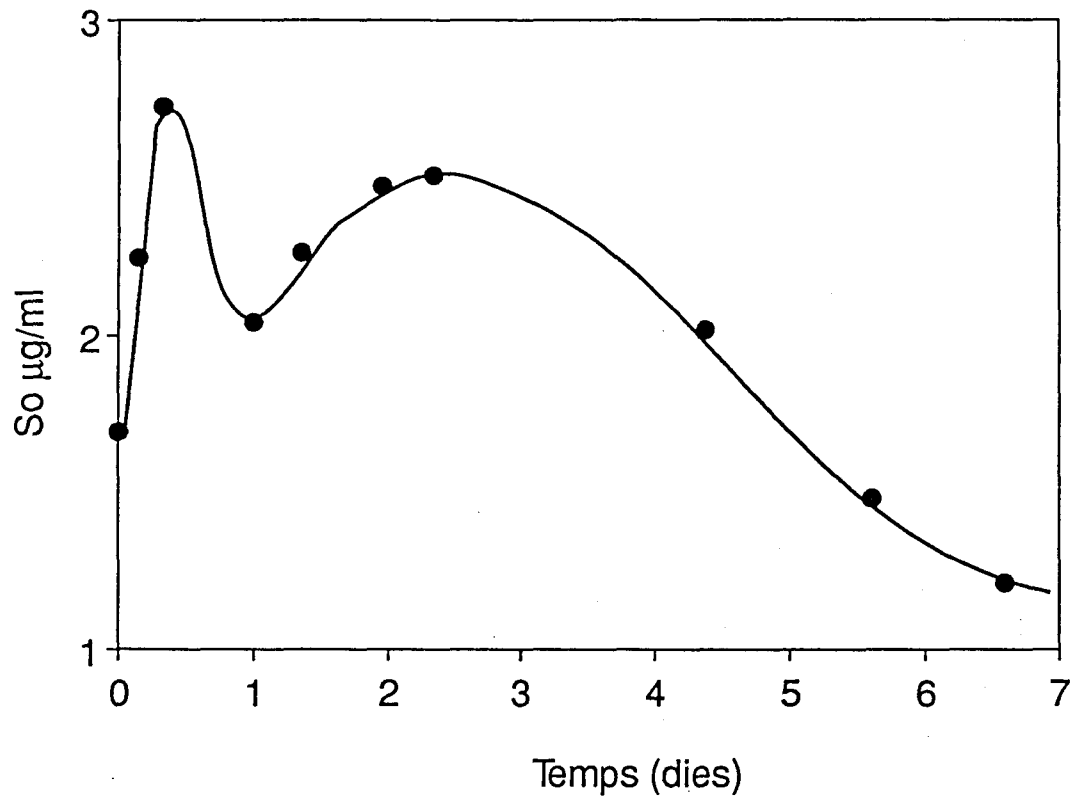
**Figura 6.15.** Evolució al llarg del temps del ferro retingut i del ferro a l'efluent, després de filtrar les mostres. Control: incubació a les fosques; Prova: incubació a la llum. **Figure 6.15.** Time course of particulate and soluble iron, after filtering of samples. Control: dark conditions; Prova (Proof): light conditions.

la llum. Les mostres es filtraven a través de policarbonat Nuclepore de 0.2  $\mu\text{m}$  de diàmetre, mesurant el ferro que quedava retingut i el ferro de l'efluent. La figura 6.15 mostra les concentracions de  $\text{Fe}^{2+}$  mesurades al filtre i a l'efluent, al llarg del temps. Tant el cultiu il·luminat com el que estava a les fosques mantenen el ferro unit a les cèl·lules, quedant retingut en el filtre. La petita quantitat de  $\text{Fe}^{2+}$  mesurada a l'efluent en ambdós casos es deu probablement al fet que els bacteris no són capaços d'adsorvir tot el ferro afegit al medi. La quantitat de  $\text{Fe}^{2+}$  retinguda per cèl·lula és limitada tal i com es pot veure al següent apartat.

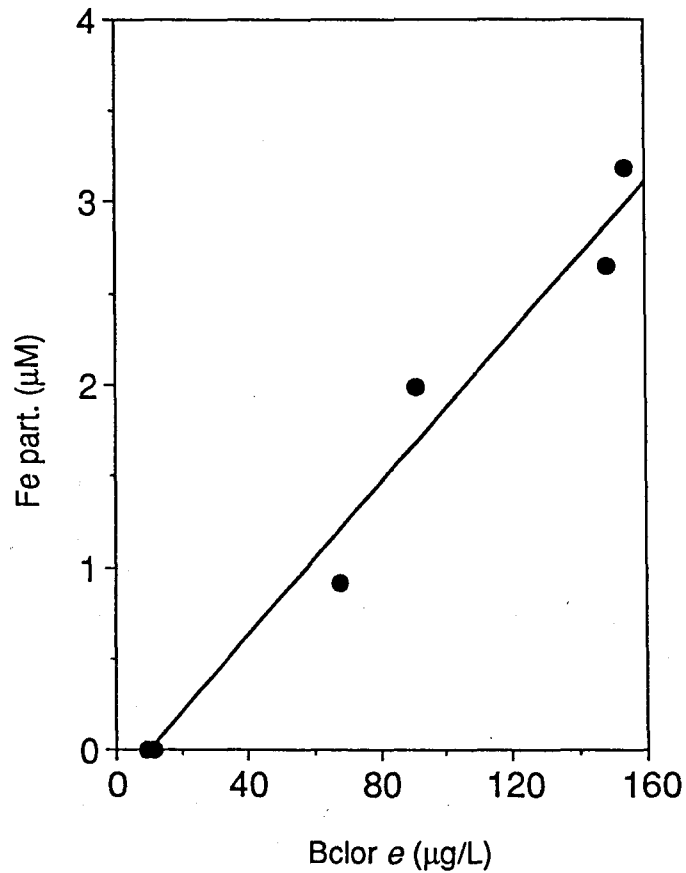
En aquest experiment es va seguir la concentració de  $\text{S}^0$  del medi observant-se que hi ha un alliberament de sofre elemental, com a producte metabòlic de l'oxidació del  $\text{H}_2\text{S}$  (figura 6.16). El sofre és, de totes maneres, un indicatiu de l'activitat oxidadora. Per quantificar l'efecte d'aquesta oxidació sobre els bacteris caldria haver analitzat la incorporació de  $^{14}\text{C}$  o bé l'evolució dels sucres totals al llarg del temps. Els resultats donen suport a la hipòtesi d'una utilització fotosintètica del FeS per part de *Chlorobium*. El primer màxim que s'observa pot ser degut a la utilització immediata del  $\text{H}_2\text{S}$  que no es combina amb el  $\text{Fe}^{2+}$ . El sofre elemental producte del FeS correspondria al segon màxim el qual s'assoleix a una velocitat menor, tardant dos dies i mig en assolir el màxim de sofre al medi. No obstant, i donat que en aquest cas el sulfhídric actua de factor limitant, cal pensar que hi ha una utilització simultània del  $\text{H}_2\text{S}$  i del  $\text{S}^0$  segons han descrit Van Gemerden i Beeftink (1978). Amb la presència de ferro, el  $\text{S}^0$  continua essent oxidat a  $\text{SO}_4^{2-}$  fins la seva pràctica desaparició.

#### 6.2.3.4. Unió del ferro a les cèl·lules

La població de *Chlorobium phaeobacteroides* estudiada a l'estiu de 1987 a l'Estanyol del Vilar mostrava, abans de l'aparició de les Cromatiàcies, una distribució vertical que coincidia amb la distribució de ferro particulat. La relació entre aquest i la bacterioclorofil·la *e* a la zona de la columna d'aigua on es troba el màxim de concentració està expressada a la figura 6.17. S'observa que, a l'Estanyol del Vilar, el ferro depèn directament de la concentració de Bclor *e*. Aquesta població de *Chlorobium* va ser progressivament substituïda per una altra de *Chromatium*, a mida que la concentració de  $\text{H}_2\text{S}$  creixia. A la figura 6.18 es mostra l'evolució del contingut específic de ferro (CEF) mesurat amb  $\mu\text{mol Fe}/\mu\text{g Bclor } e$  al llarg del temps, juntament amb els valors integrats de Bclor *a* i *e*. Els valors de CEF per a la població de *Chlorobium* augmenten a mida que la densitat de la mateixa. Aquest increment, però pot atribuir-se al fet que, una vegada desaparegut el "plate" de *Chlorobium* els perfils de ferro particulat (unit a les cèl·lules) i el FeS amorf contingut a la



**Figura 6.16.** Evolució del  $S^0$  en un cultiu de *Chlorobium phaeobacteroides* amb  $\text{FeS}$ . **Figure 6.16.** Time course of  $S^0$  in a culture of *Chlorobium phaeobacteroides* growing with  $\text{FeS}$

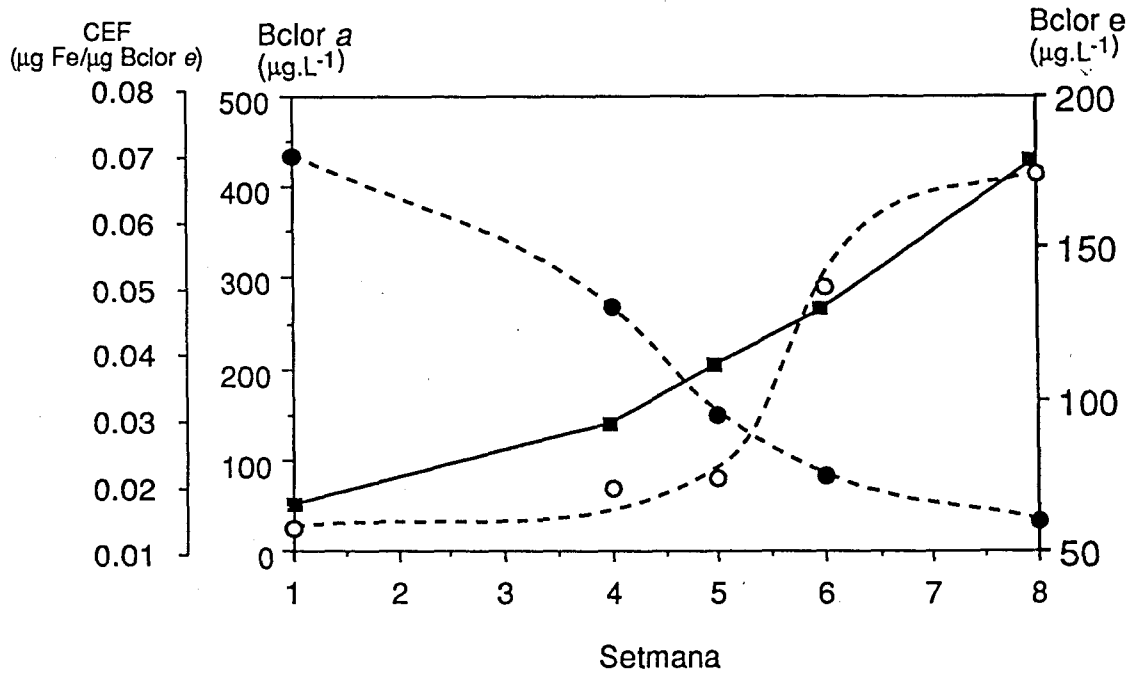


**Figura 6.17.** Variació del ferro particulat mesurat a la capa de *Chlorobium phaeobacteroides* l'estiu de 1987, en funció de la concentració de Bchl *a*.  
**Figure 6.17.** Scatter plot of particulate iron measured at the plate of *Chlorobium phaeobacteroides* in Lake Vilar (summer, 1987) versus the concentration of Bchl *a*.

columna d'aigua es trobaven sobreposats i es feia més difícil distingir un de l'altre (veure capítol de discussió).

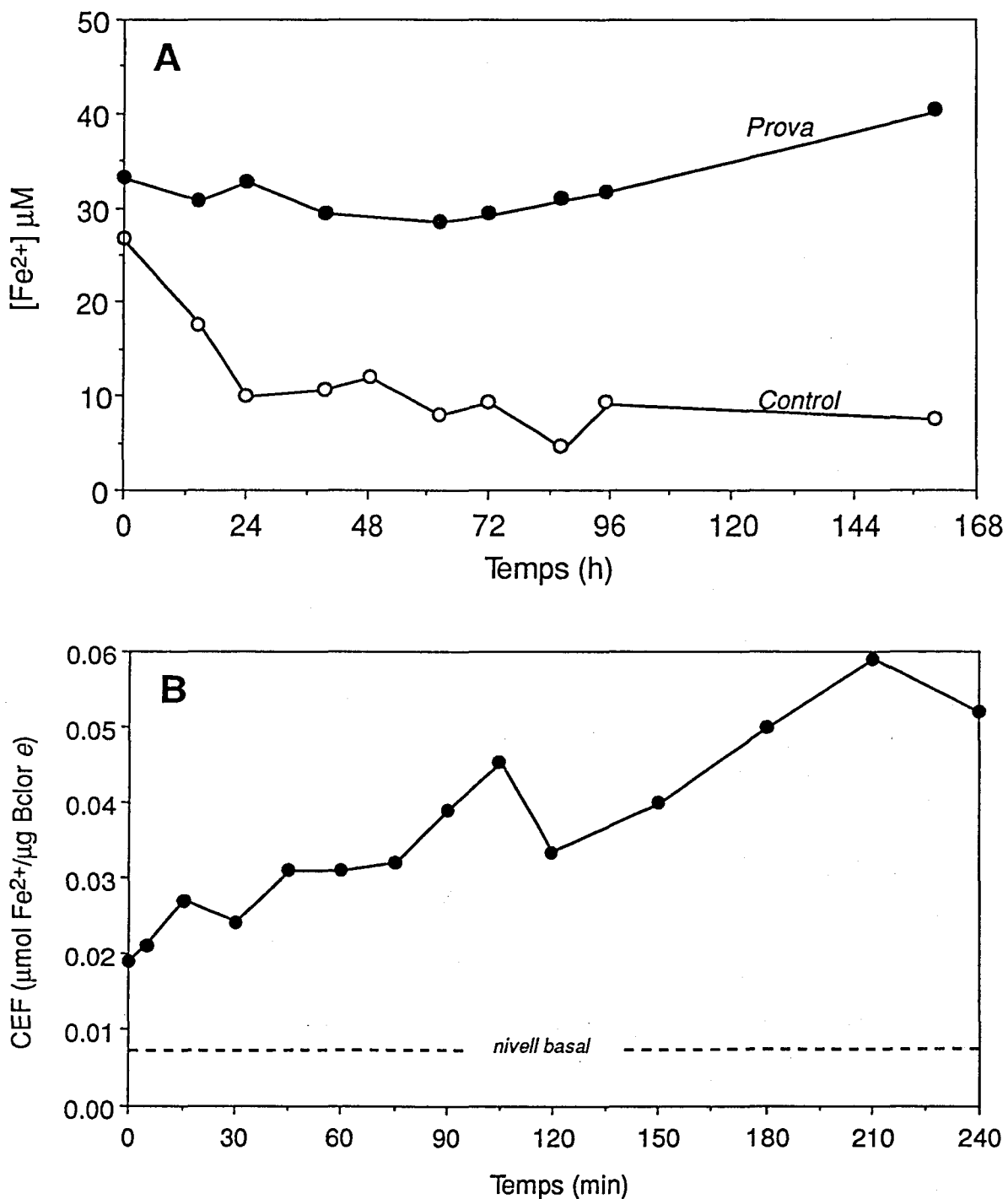
Una de les qüestions que es plantejaven era la naturalesa de la unió del ferro a les cèl·lules. Tots els indicis portaven a pensar que aquesta unió era inespecífica i passiva. Es va fer un experiment per comprovar que, efectivament, era així. Es varen preparar dos cultius de *Chlorobium phaeobacteroides* un dels quals es va inactivar per addició de NaCl al 10 %. Es varen prendre mostres periòdicament per veure, en cas que la incorporació de ferro fos activa, quins eren els paràmetres cinètics que regien aquesta adsorció. Els resultats estan expressats a la figura 6.19(a) i mostra clares diferències entre els dos cultius assaijats. En primer lloc es veu que la unió és passiva doncs el màxim contingut específic de ferro (CEF) s'assoleix immediatament als dos casos. Quan els intervals entre les observacions es redueixen s'observa una cinètica lineal d'incorporació. No obstant això, s'aprecia com el CEF de les cèl·lules del control va disminuint al llarg del temps assolint el seu mínim en 20 hores aproximadament, tot i que inicialment es va trobar el mateix valor de per ambdós cultius. El cultiu prova manté constant el seu CEF al llarg del temps. Els valors inicials de ferro, mesurats abans de posar en contacte el cultiu amb el  $Fe^{2+}$  eren de  $4.24 \mu\text{g Fe}/\mu\text{g Bclor } e$  i de  $1.03 \mu\text{g Fe}/\mu\text{g Bclor } e$  pels cultius prova i control respectivament, donant una idea del nivell basal de ferro inherent tant a les cèl·lules com a la pròpia composició en ferro del cultiu. Un altre experiment, aquest cas amb *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum*, mostrava de forma més clara la rapidesa d'aquesta unió. El procediment experimental és el mateix que l'anterior, però en aquesta ocasió es prengueren mostres immediatament després de l'addició de ferro, repetint el procediment cada 15 minuts. Com es pot comprovar a la figura 6.19 (b), el màxim valor de CEF s'assoleix molt ràpidament essent difícil distingir una cinètica dins uns intervals de temps raonablement curts, que permetessin la manipulació de la mostra.

Aquests resultats donen informació sobre dos aspectes diferents sobre els mecanismes d'adsorció de ferro a l'exterior de les cèl·lules. Primer, mostren que es fa de forma passiva concordant amb resultats de Ghiorse i Hirsch (1979). En segon lloc s'observa que la incorporació de ferro a l'exterior no és instantània, sinó progressiva durant dues o tres hores fins assolir el màxim. D'altra banda, les cèl·lules mortes semblen perdre la capacitat de retenir el ferro, a menys que el NaCl afegit al cultiu interfereixi el mecanisme d'unio a les cèl·lules, descrit a l'apartat 3.3.2.



**Figura 6.18.** Evolució conjunta del CEF (■) i dels valors mitjants de concntració de Bclor a (○), Bclor e (●) a l'Estanyol del Vilar, des del 6 de juliol (primera setmana) fins el 24 d'agost (vuitena setmana) de 1987. **Figure 6.18.** Time variation of CEF (■) and mean values of Bclor a (○), Bclor e (●) in Lake Vilar, from July 6th (first week) till August 24th (eighth week), 1987





**Figura 6.19. A:** Evolució al llarg del temps del ferro unit a les cèl.lules d'un cultiu de *Chlorobium phaeobacteroides*. El control es va fer afegint NaCl al 10 % a un cultiu paral.lel. **B:** Cinètica d'adsorció del ferro a l'exterior de les cèl.lules de *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum*. **Figure 6.19. A:** Time course of cell-linked iron in a culture of *Chlorobium phaeobacteroides*. Control consists of a parallel culture with 10 % NaCl. **B:** Kinetics of iron adsorption to the cells in a culture of *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum*

### 6.2.3.5. Corba d'adsorció del $Fe^{2+}$ a les cèl.lules

El contingut específic de ferro (CEF) per a diferents concentracions de ferro afegides al medi va esser assajat amb l'objectiu de veure la capacitat d'incorporar ferro per part dels bacteris. A la figura 6.20 es representa la isoterma d'adsorció del ferro per a *Chlorobium phaeobacteroides*. Es pot apreciar un increment constant en el CEF a mida que s'incrementava la concentració de  $Fe^{2+}$  al medi, fins que s'arribava a una concentració per sobre 100  $\mu M$  on les cèl.lules mostraven una resposta de saturació. Per la forma de la corba, aquesta va esser ajustada a una de fórmula general:

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

on  $Y$  és la CEF per a cada concentració de  $Fe^{2+}$  ( $X$ ),  $Y_{max}$  és la càrrega màxima de ferro per cèl.lula i  $K_s$  és una constant aparent d'afinitat de l'envolta bacteriana pel ferro. Aquesta funció correspon a una corba de saturació de Michaelis-Menten a la que se li ha afegit el terme  $Y_0$  que correspon al nivell basal de ferro inherent al cultiu, i al qual s'en feia referència a l'apartat 3.3.4.

L'ajust de la corba es va fer utilitzant càlculs iteratius amb el programa estadístic BMDP, segons s'ha descrit al capítol de material i mètodes. Tant les instruccions com els càlculs efectuats es mostren a l'apèndix de la present memòria. La taula 6.1 recull els principals paràmetres calculats que defineixen l'adsorció de ferro per part de *Chlorobium*. Mitjantçant aquests càlculs s'ha pogut establir el contingut basal de ferro d'un cultiu de *Chlorobium* en 0.986  $\mu M$ . Hom pot comprovar que el ferro associat a *Chlorobium* pot arribar a ser dos ordres de magnitud superior al detectable com a ferro basal.

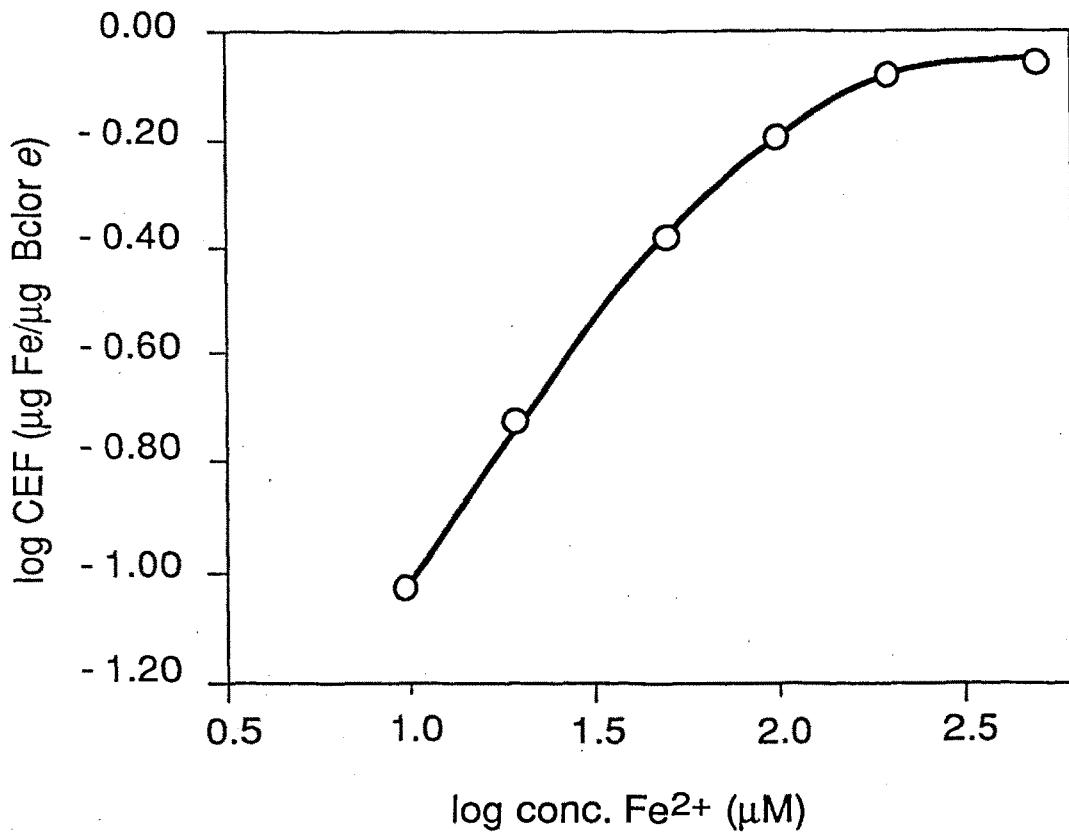
### 6.2.3.6. Cinètica d'utilització de $S^{2-}$ / $FeS$

El fet que l'electrode selectiu de sulfurs tingués una resposta linial en front la "concentració"<sup>1</sup> de  $FeS$  del medi va permetre quantificar la cinètica de desaparició d'aquest  $FeS$  sense massa complicacions metodològiques (vegeu material i mètodes). Es va mesurar la desaparició de  $FeS$  utilitzant dues espècies de *Chlorobium*, *C. phaeobacteroides* i *C. limicola* f. *thiosulfatophilum*. Per fer aquestes cinètiques es posava a créixer un cultiu de *Chlorobium*

<sup>1</sup> El  $FeS$  és, químicament, un precipitat sòlid. Per això no es pot parlar pròpiament de concentració, en no estar dissolt en el medi. Aquí s'utilitza aquest terme com un convencionalisme tot i tenint en compte que, en mesurar la quantitat de  $FeS$ , hom mesura el sulfur que va quedant en cada moment.

**Taula 6.1.** Paràmetres calculats per l'adsorció de Fe<sup>2+</sup> per *Chlorobium phaeobacteroides*.

PARÀMETRE	ESTIMAT	COEF. DE VARIACIÓ
CEF(max)	3.5 X 10 <sup>-2</sup> µg Fe <sup>2+</sup> /ug Bclor e	0.088
Ks	49.102 µM	0.349
CEFo	3,2 x 10 <sup>-4</sup> µg Fe <sup>2+</sup> /ug Bclor e	8.567



**Figura 6.20.** Corba d'adsorció del ferro per a *Chlorobium phaeobacteroides*.  
**Figure 6.20.** Adsorption of iron of *Chlorobium phaeobacteroides*.

**Taula 6.2.** Paràmetres cinètics d'utilització del sulfur en forma de FeS per part de *Chlorobium phaeobacteroides* i *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum*.

	<i>Chlorobium phaeobacteroides</i>	<i>Chlorobium limicola</i> f. <i>thiosulfatophilum</i>
V <sub>max</sub> (mM.h <sup>-1</sup> )	0.012 mM.h <sup>-1</sup>	0.0075 mM.h <sup>-1</sup>
K <sub>s</sub> (mM)	0.0765 mM	0.0068 mM(*)

(\*) sotmesa a considerable error degut a la imprecissió del càlcul en aquesta zona.

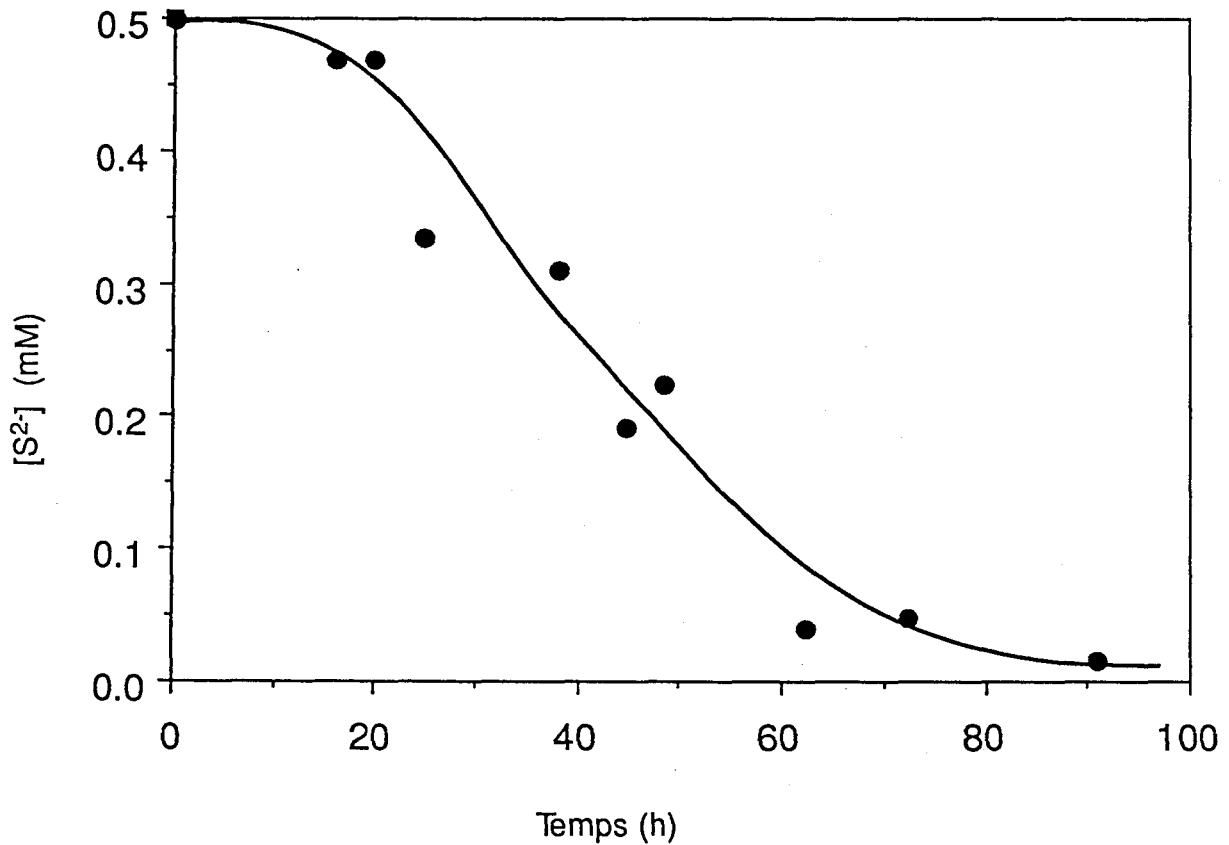
fins que esgotava per complert el sulfhídric primer, i el sofre després. Per aconseguir el FeS es posava  $\text{Fe}^{2+}$  en excés (1 mM), posteriorment s'afegia  $\text{Na}_2\text{S}$  fins a una concentració final de 0.5 mM i es deixava reaccionar a les fosques durant 24 hores per tal d'assegurar la reacció complerta entre el ferro i el sulfur. Les condicions d'incubació foren les mateixes per ambdós cultius. Els resultats es mostren a les figures 6.21 i 6.22.

En la cinètica de *Chlorobium phaeobacteroides* passen unes vuit hores abans no comença a baixar la concentració de FeS. Comparativament parlant, la utilització de FeS per part de *Chlorobium phaeobacteroides* és dues vegades més ràpida que a *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum* segons es desprèn dels paràmetres cinètics calculats, els quals estan expressats a la taula 6.2. Les diferències expressades en aquesta taula tenen a veure amb l'adaptació que cadascuna presenta a les baixes intensitats lumíniques. Cal tenir en compte que l'addició de FeS al cultiu limitava força la llum per l'enfosquiment del medi. No obstant això, els resultats poden ésser comparats, doncs la quantitat de llum, per ser-ho la de FeS, era la mateixa per ambdós cultius. La llum és un factor que juga un paper molt important a l'hora de seleccionar una o altra espècie als ambients aquàtics tal i com es veurà més endavant.

#### 6.2.3.7. Metabolisme de les Clorobiàcies a les fosques

Per tal de veure si el ferro en el medi tenia alguna incidència metabòlica en el dejú perllongat de *Chlorobium*, a les fosques, es va fer un assaig amb un cultiu de *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum* al qual se li va deixar que consumís totalment el sulfhídric i el sofre. Posteriorment es va distribuir en parts iguals en sengles botelles de cultiu, a una de les quals s'hi va afegir  $\text{Fe}^{2+}$  en excés (0.5 mM). Les dues ampolles es varen incubar a 20 °C a les fosques durant 30 dies. Passat aquest temps la mostra que contenia  $\text{Fe}^{2+}$  presentava un color verd fosc, mentres que l'altra era verd clar. Les condicions de pH i Eh d'ambdós cultius era, però, la mateixa: la mostra sense ferro tenia un pH de 6.9 i un Eh de -216 mV mentres que la mostra amb ferro els valors eren de 6.86 i -200 pel pH i el Eh respectivament. El contingut específic de sucres totals va reduir-se gairebé a la meitat (taula 6.3). Posteriorment, es va fer un inòcul de cada una d'aquestes ampolles (10 mL) a una botella amb 100 mL de medi *Pfennig* fresc. Si era veritat que el  $\text{Fe}^{2+}$  aportava una certa "energia de manteniment", els bacteris que havien estat a les fosques amb  $\text{Fe}^{2+}$  es reactivarien amb més facilitat que les altres. A la figura 6.23 es mostren els creixements dels dos cultius, mesurats a partir de la resta de les absorvànies a 748 nm (màxim de l'espectre *in vivo*) i a 830 (mesura de la turbidesa del cultiu) segons Garcia-Gil i Abellà (1986). Al final de la addició de sulfhídric suplementari el creixement és el mateix per als dos cultius,

t6.3

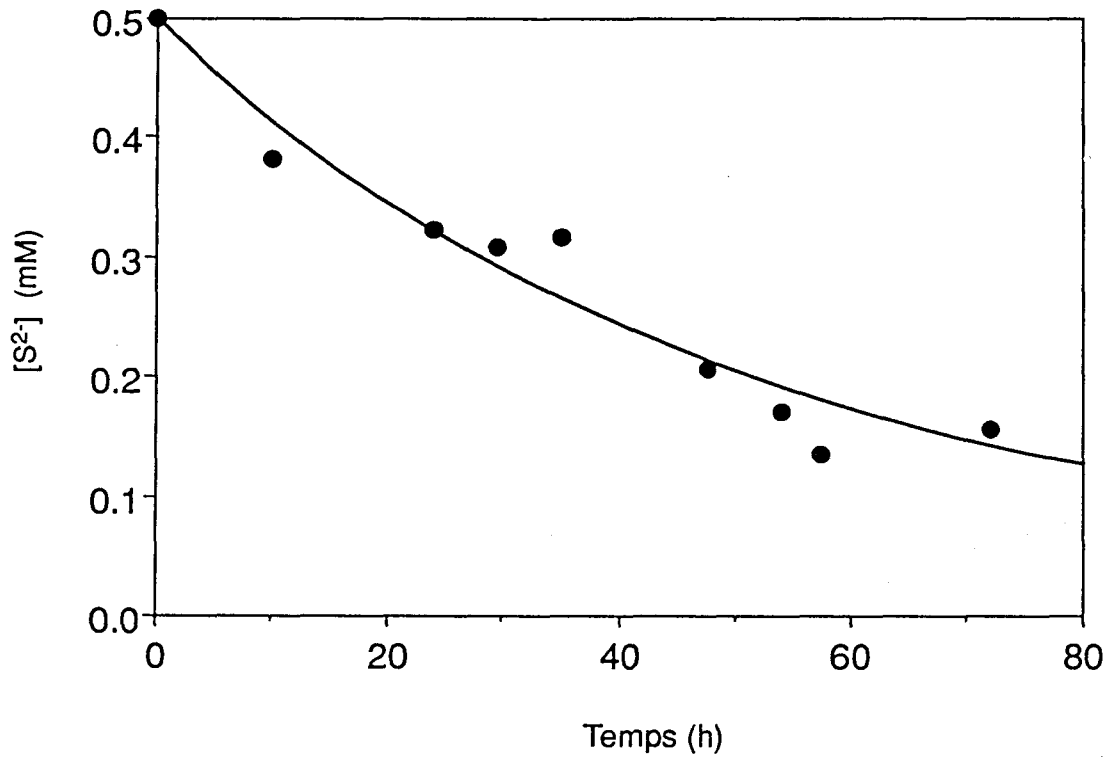


**Figura 6.21.** Cinètica de desaparició de FeS mesurat com a  $S^{2-}$  en un cultiu pur de *Chlorobium phaeobacteroides*. **Figure 6.21.** Kinetics of FeS depletion measured as  $S^{2-}$  in a pure culture of *Chlorobium phaeobacteroides*.

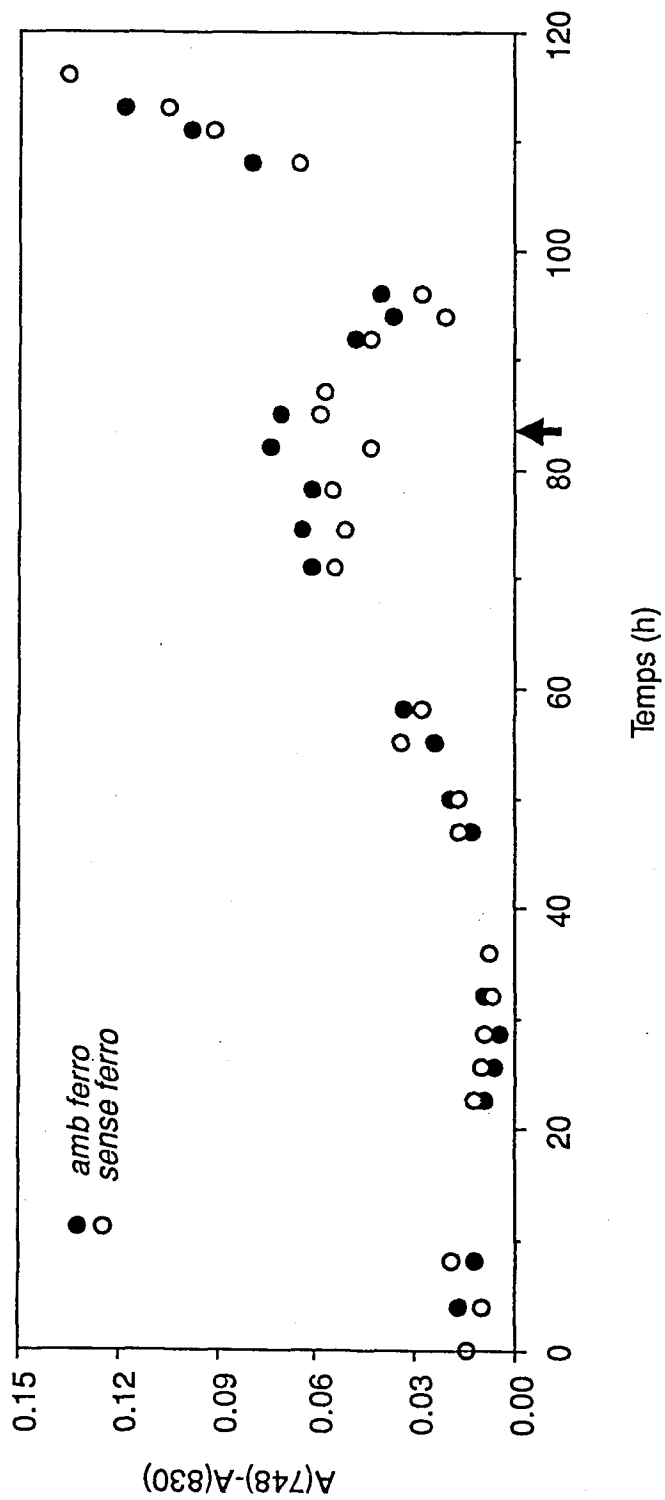
**Taula 6.3.** Alguns paràmetres bioquímics dels cultius en dejuni pels dos tractaments: medi contenint ferro i medi sense ferro. **S.T.:** sucres totals; **C.E.S.T.:** contingut específic de sucres totals.

<b>CULTIU</b>	<b>Bclor c</b> ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	<b>Clorobactè</b> ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	<b>S.T.</b> ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	<b>C.E.S.T.</b> ( $\mu\text{g S.T.}/\mu\text{g Bclor e}$ )	<b>pH</b>	<b>Eh</b> (mV)
AMB FERRO	974.1	521.3	12.54	12.87	6.90	-216.4
SENSE FERRO	1009.1	536.8	14.78	14.64	6.86	-200.6
CULTIU	2213.4	1311,9	55,33	25,00	-	-





**Figura 6.22.** Cinètica de desaparició de FeS mesurat com a  $S^{2-}$  en un cultiu pur de *Chlorobium limicola*. **Figure 6.22.** Kinetics of FeS depletion measured as  $S^{2-}$  in a pure culture of *Chlorobium limicola*.



**Figura 6.23.** Creixement de dos cultius de *Chlorobium limicola f. thiosulfatophilum* amb ferro i sense ferro al medi, després d'estar incubats durant un mes a les fosques i sense sulfidric. La fletxa indica el moment en que es va realitzar una addició de sulfidric (2 mM concentració final). **Figure 6.23.** Growth of two cultures of *Chlorobium limicola f. thiosulfatophilum* with and without in culture medium, after one month starvation (no light and no sulfide). Arrow indicates the moment at which a refeding of 0.2 mM of sulfide was made.

però és interessant resaltar el nivell de creixement dels cultius abans d'aquesta addició. No obstant això, no semblen existir diferències substancials des d'un punt de vista global entre els creixements d'ambdós cultius la qual cosa recolça la idea que el  $\text{Fe}^{2+}$  no intervé en el metabolisme a les fosques.

S'haurien de portar a terme, però, altres experiments en condicions micro-aeròbiques, per tal de veure si les Clorobiàcies, a l'igual que les Cromatiàcies són capaces d'utilitzar el ferro quimiolitotòficament.

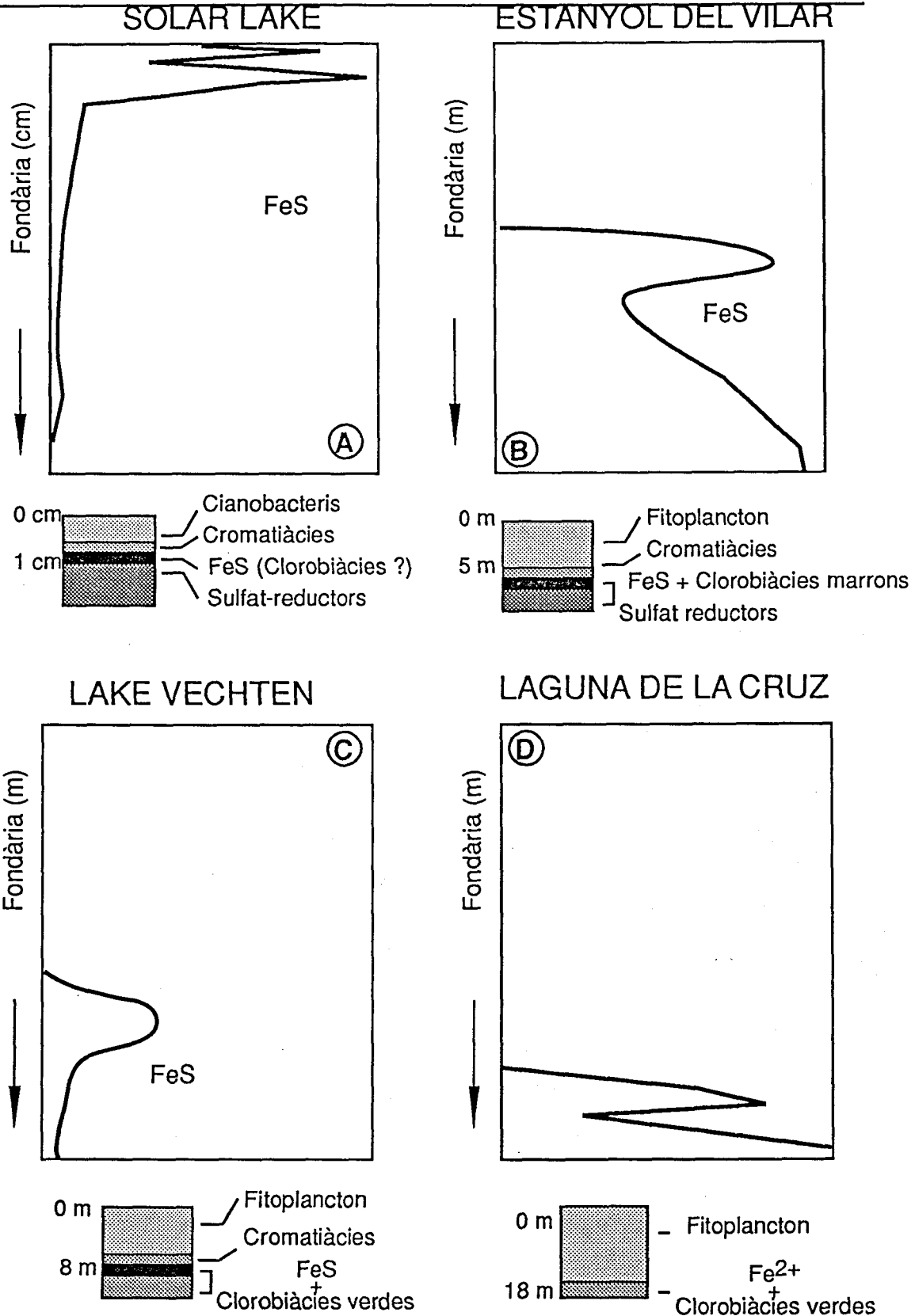
### 6.3. DISCUSSIÓ

Els experiments descrits a l'apartat anterior mostren alguns aspectes de la fisiologia dels bacteris fototròfics del sofre en relació al ferro. Des d'un punt de vista del que passa als sistemes naturals també descrits amb anterioritat, els aspectes més destacables es relacionen amb la capacitat que presenten les cèl·lules d'unir el ferro a la seva envolta, i els possibles efectes que aquesta afinitat pugui tenir sobre el seu desenvolupament en ambients on la concentració de  $\text{Fe}^{2+}$  ultrapassa la de  $\text{H}_2\text{S}$ .

#### 6.3.1. Distribució conjunta de ferro i Clorobiàcies a la columna d'aigua

Caldria, primerament, destacar la importància del mostreig fi (veure material i mètodes) en l'estudi precís del màxim de bacteris fototròfics i dels elements que es distribueixen conjuntament. Probablement un mostreig més groller hauria passat per alt gran part del que ara es pot descriure sobre la composició i la distribució vertical dels bacteris fototròfics amb el ferro i el sulfur.

Són molts els treballs que fan referència al cicle biogeoquímic del ferro, però en rares ocasions es descriu la seva distribució conjuntament a la columna d'aigua d'un llac amb una població microbiana. Glover (1978) va fer una descripció d'una població de dinoflagelats a aigües costaneres, que presentava un patró de distribució vertical molt similar al del ferro. Pel que fa als bacteris fototròfics, Brugada i Montesinos (1987) trobaren un pic de sulfur, per sota la capa de *Chromatium* que aleshores hi havia. Aquest màxim de sulfurs coïncidia amb el punt on es trobava el màxim d'una població de *Chlorobium* que es desenvolupava sota els primers. Dissortadament, no es feren anàlisi de ferro i per tant es fa difícil esbrinar si el sulfur mesurat estava en forma lliure, o pel contrari allí hi havia una acumulació de  $\text{FeS}$  amorf; el cert és que la llum s'extingia per complert coincidint amb aquest màxim. Estudis realitzats en llacs on el cicle del ferro és més actiu que el del sofre, mostren situacions similars a les descrites fins ara. Steenbergen et al. (1987) troben perfils de  $\text{FeS}$  que coincideixen en fondària amb els dels bacteris fototròfics del sofre, concretament Clorobiàcies. En aquest mateix llac s'han trobat també màxims de sulfhídric a la mateixa fondària que els màxims de bacterioclороfil·la e (Riera et al. 1988). Per últim, alguns treballs amb tapets microbians (Doemel i Brock 1976, Jorgensen i Cohen 1977), mostren als seus resultats perfils de  $\text{FeS}$  que (a escala de mil·límetres) són comparables als obtinguts a l'Estanyol del Vilar. Així doncs, hom pot afirmar que, en determinats ambients on els cicles del ferro i del sofre es



**Figura 6.24.** Exemples de màxims de Fe<sup>2+</sup> i FeS trobats a diferents ambients. **A:** Tapets microbians. Redibuixat de Jorgensen i Cohen (1977). **B:** A partir de Brugada i Montesinos (1987). **C:** Redibuixat de Steenbergen et al. (1987). **D:** Dades no publicades. **Figure 6.24.** Some examples of FeS peaks found at different environments. **A:** Microbial mats. Redrawn from Jorgensen & Cohen (1977). **B:** From Brugada and Montesinos (1987). **C:** Redrawn from Steenbergen et al. (1987). **D:** Unpublished data.

manifesten conjuntament, el trinomi format pels bacteris fototròfics, el ferro i el sulfur sovint pot trobar-se en diferents sistemes tal com mostra la figura 6.24. El FeS al monimolimnion de l'Estanyol del Vilar es distribueix verticalment formant un perfil característic que pot ser interpretat com la suma del FeS particulat unit a les cèl.lules més el perfil de precipitació del FeS cap al sediment.

### 6.3.2. Unió del ferro a les cèl.lules.

La capacitat dels bacteris fototròfics, especialment de les Clorobiàcies, d'unir ferro a la seva envolta, és un dels trets més importants de la relació entre aquest grup i el ferro. Els estudis ultraestructurals de la unió de ferro a l'exterior de les cèl.lules mostren imatges molt similars a les presentades al present treball (Dubinina 1976, Ghiorse i Hirsch 1979, Tuovinen i Nurmiäho 1979) amb la diferència que els treballs esmentats es centren en espècies que metabòlicament depenen del ferro per a viure, mentres que no es té cap evidència que el ferro sigui metabòlicament necessari per als bacteris fototròfics, apart dels seus requeriments metabòlics com a oligoelement (Larsen, 1953). No obstant això, les similituds trobades a nivell microscòpic i el fet conegut que el ferro s'uneix de forma generalment passiva a l'exterior de les cèl.lules (Ghiorse i Hirsch, 1979) són indicadors que no existeixen grans diferències entre aquests tipus de microorganismes, tant pel que fa als mecanismes químics que governen aquesta unió com per les molècules implicades.

Existeixen diversos grups bacterians que uneixen ferro a l'exterior. Els bacteris del ferro, compostat per quimiolitotrofs dels gèneres *Leptothrix*, *Gallionella*, *Metallogenium*, *Siderocapsa*, *Sphaerotilus*, etc. (Ghiorse, 1984) són els més coneguts. Aquesta deposició de ferro a l'exterior de la cèl.lula, però, es produeix en forma d'òxids, com a conseqüència de la seva activitat metabòlica, mitjançant la qual obtenen l'energia i el poder reductor de l'oxidació del  $Fe^{2+}$  a  $Fe^{3+}$ .

Hi ha altres grups bacterians amb capacitat d'unir ferro al seu exterior, com a conseqüència de la pròpia composició i estructura externa. Es conegut per la bibliografia que diverses molècules existents a l'envolta externa dels bacteris, en aquest cas gram-negatius, poden complexar el  $Fe^{2+}$  (Hancock 1987, Beveridge i Koval 1981, Hoyle i Beveridge 1983, 1984) es a dir unir-se mantenint les dues valències del ferro, conservant per tant la seva capacitat per a reaccionar com a  $Fe^{2+}$ . Moltes d'aquestes molècules tenen càrregues negatives. La naturalesa d'aquesta unió és passiva i es produeix bàsicament amb els grups fosforil del lipopolisacàrids i els fosfolípids presents a la

membrana externa (Beveridge 1986, Ferris 1989). Sembla que són les fases hidrolítiques de la membrana externa les que aporten els llocs per la interacció amb l'ió metàl·lic, els quals tendeixen a formar enllaços amb grups donadors d'electrons. A la coberta cel·lular els més efectius són els grups carboxil associats als polisacàrids de la càpsula. La interacció general pot interpretar-se com una reacció àcid base (Geesey i Jang, 1989):



on  $H^{+}$  representa l'àcid,  $L^{-1}$  la base i  $M^{n+}$  el catió metàl·lic.

Pel que fa als bacteris fototròfics del sofre, els resultats presentats donen informació sobre dos aspectes fonamentalment. Primer, mostren que la incorporació de ferro a les cèl·lules es fa de forma molt ràpida i passiva concordant amb resultats de Ghiorse i Hirsch (1979). En segon lloc s'observa que la incorporació de ferro a l'exterior no és instantània, sinó progressiva durant dues o tres hores fins assolir el màxim. D'altra banda, les cèl·lules mortes semblen perdre la capacitat de retenir el ferro, a menys que el NaCl afegit al cultiu interfereixi el mecanisme d'unió a les cèl·lules, descrit a l'apartat 6.2.3.4.

Sí sembla existir, però, una certa especificitat pel que fa a l'estat d'oxidació del ferro que uneixen. El fet que no uneixin la ferritina, proteïna rica en  $Fe^{3+}$ , fa pensar que la unió del ferro es verifica prevalentment quan aquest es troba en la seva forma reduïda i soluble. Aquesta preferència pel  $Fe^{2+}$  en lloc del  $Fe^{3+}$  ajuda a relacionar la unió del ferro a l'exterior de la cèl·lula amb una estratègia ecològica per desenvolupar-se en ambients on el  $H_2S$  és un factor limitant.

### 6.3.3. La unió de ferro com a estratègia ecològica i fisiològica de les Clorobiàcies.

Una de les qüestions bàsiques que es plantejaven era la possible utilitat metabòlica del  $Fe^{2+}$  per a *Chlorobium* en ambients deficientment il·luminats. Una primera hipòtesi observava la possibilitat que pogués servir com a donador d'electrons en condicions de foscor. Aquesta capacitat conferiria als bacteris fototròfics un sistema d'obtenció d'energia en condicions de foscor i en absència d'altres donadors d'electrons i fonts d'energia (sucres intracel·lulars). Es coneguda la capacitat d'aquests bacteris d'utilitzar substàncies orgàniques com a font de carboni, i sembla molt suggerent la idea de poder funcionar quimioautotròficament en condicions de foscor. Existeixen nombrosos exemples de microorganismes quimioautotrofs que poden utilitzar el  $Fe^{2+}$  com a font d'energia i poder reductor (Krumbein 1983, Ghiorse

1984, Kuennen & Bos 1989). Fins i tot en condicions anaeròbiques, amb el  $\text{NO}_3^-$  com a acceptor d'electrons (Jorgensen 1989). També es coneix activitat quimiolitotròfica en certes espècies de la família de les Cromatiàcies en condicions microaeròfiles (Gorlenko 1974, Kämpf i Pfennig 1980, 1986, Kondratieva et al. 1981, Eichler i Pfennig 1986). No cal descartar la possibilitat que les Clorobiàcies, puguin presentar la mateixa capacitat que les Cromatiàcies, tenint en compte que, a la natura i en concret a C-IV, sovint es presenten associats a l'oxiclina i per tant, sotmessos a condicions microaeròbiques. D'altra banda, pels resultats obtinguts, sembla rebutjada la possibilitat que el ferro pugui servir de donador d'electrons en la fotosíntesi anoxigènica tal i com s'ha observat en alguns cianobacteris (Cohen, 1986). Segons aquest autor és el fotosistema II (absent als bacteris fototròfics del sofre) l'encarregat de rebre els electrons del  $\text{Fe}^{2+}$ .

La presència de denses poblacions de Clorobiàcies a ambients on predomina el cicle del ferro i el  $\text{H}_2\text{S}$  es troba a concentracions extremadament baixes, no deixa de ser un fet com a mínim sorprenent, sobre tot si es té en compte l'alta tolerància que aquest grup té en vers el sulfhídric (Van Gemerden 1984, Bergstein 1986). D'altra banda és ben conegut que les Clorobiàcies solen presentar-se associades a altes concentracions de sulfhídric, i baixes intensitats de llum, la qual cosa porta a pensar que les Clorobiàcies desenvolupen una estratègia per créixer en ambients ferrosos, en la qual el ferro hi ha de jugar un paper cabdal. En aquest estudi s'han constatat alguns aspectes de la fisiologia d'aquests bacteris en relació amb el ferro, com poden ser:

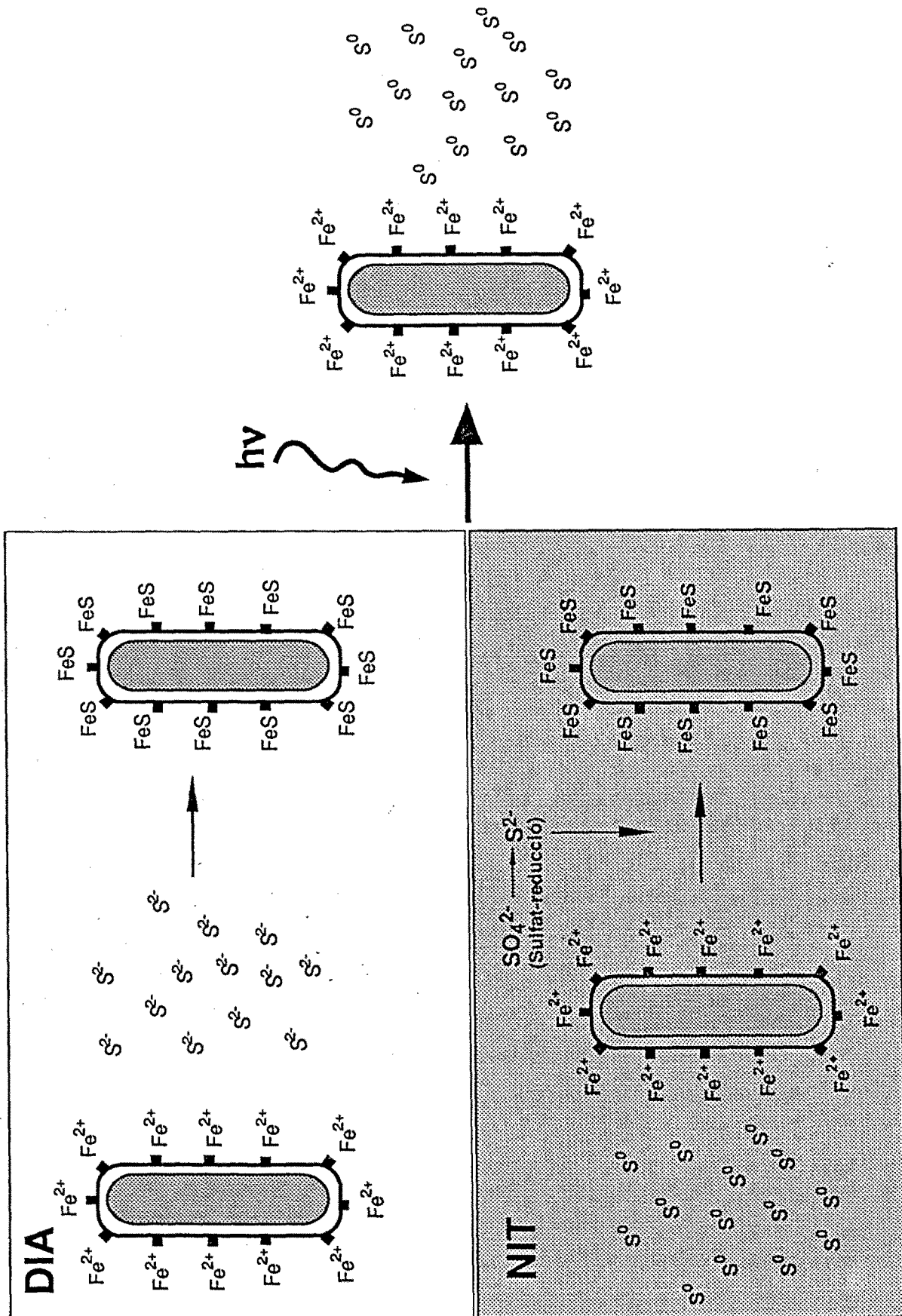
- la coincidència en les formes dels perfils de distribució vertical del ferro i la bacterioclorofil·la, a diferents ambients on el ferro hi predomina,
- la unió passiva, però específica, de  $\text{Fe}^{2+}$  a l'exterior de les cèl·lules,
- la utilització fotosintètica del sulfur en forma de  $\text{FeS}$  i la clarificació de medis de cultiu amb  $\text{FeS}$

En realitat aquestes condicions poden considerar-se com extremes, atesa la dificultat que representa pels bacteris aconseguir el sulfhídric en competència amb el ferro, el qual, com ja és conegut, té una alta afinitat química amb el sulfur, formant un precipitat, el  $\text{FeS}$ , amb un producte de solubilitat molt baix. Es parla doncs, d'una competència entre dos sistemes altament afins al ferro, un de enzimàtic i un de químic. Tant la unió del ferro amb els bacteris i els fets descrits més amunt, expressats en termes ecològics poden explicar el fet que aquestes poblacions visquin en ambients on el sulfhídric és pràcticament indetectable. Les cèl·lules, en unir el ferro, estarien



**Figura 6.25.** Hipòtesi sobre la utilitat de la unió de  $\text{Fe}^{2+}$  a l'exterior de la cèl.lula, per a l'obtenció d'ions  $\text{S}^{2-}$  en ambients ferrosos. Durant el dia l'ió sulfur s'uneix al ferro de l'exterior de la cèl.lula, quedant en forma de  $\text{FeS}$ . Aquest compost és insoluble, però té un cert grau de dissociació que és suficient per que el  $\text{HS}^-$  resultant sigui utilitzat enzimàticament per la cèl.lula, (consumit fotosintèticament), produïnt-se sofre elemental que pot alliberar-se al medi o ser consumit simultàniament. El ferro queda en forma d'ió  $\text{Fe}^{2+}$ , preparat per combinar-se químicament amb un altre ió sulfur. Durant la nit continua la producció de sulfhídric, tant per respiració endògena dels propis bacteris fototròfics com per l'activitat dels sulfat-reductors, però en canvi no hi ha consum biològic. El sulfhídric acumulat es combina ràpidament amb el ferro de l'ambient però també ho fa amb el que està unit a l'exterior de les cèl.lules. Aquest  $\text{FeS}$  servirà, quan surti el sol, d'encebador per seguir mateix procés descrit més amunt.

**Figure 6.25.** Hypothesis on the usefulness of the  $\text{Fe}^{2+}$  binding to the cell, in order to obtain sulfide ions in ferrous environments. During the day sulfide combines chemically to the outside of the cell, forming  $\text{FeS}$ . Although this compound is highly insoluble, it has a certain degree of dissociation, which is sufficient for the cell to consume photosynthetically the  $\text{HS}^-$  produced as a consequence of such dissociation. The resulting  $\text{S}^0$  can be either released to the surrounding of the cell or be simultaneously consumed. Iron results in the form of ferrous ion, ready to combine with more sulfide. During the night (dark conditions) the sulfide production goes on either by endogenous respiration or by sulfate-reducers activity, whereas the biological consumption is nule. Then, sulfide accumulates and combines chemically with  $\text{Fe}^{2+}$  either in the water or in the cell. Thus, the  $\text{FeS}$  formed can be used as a primer for start, when sunlight appears, photosynthetic activity as described above.



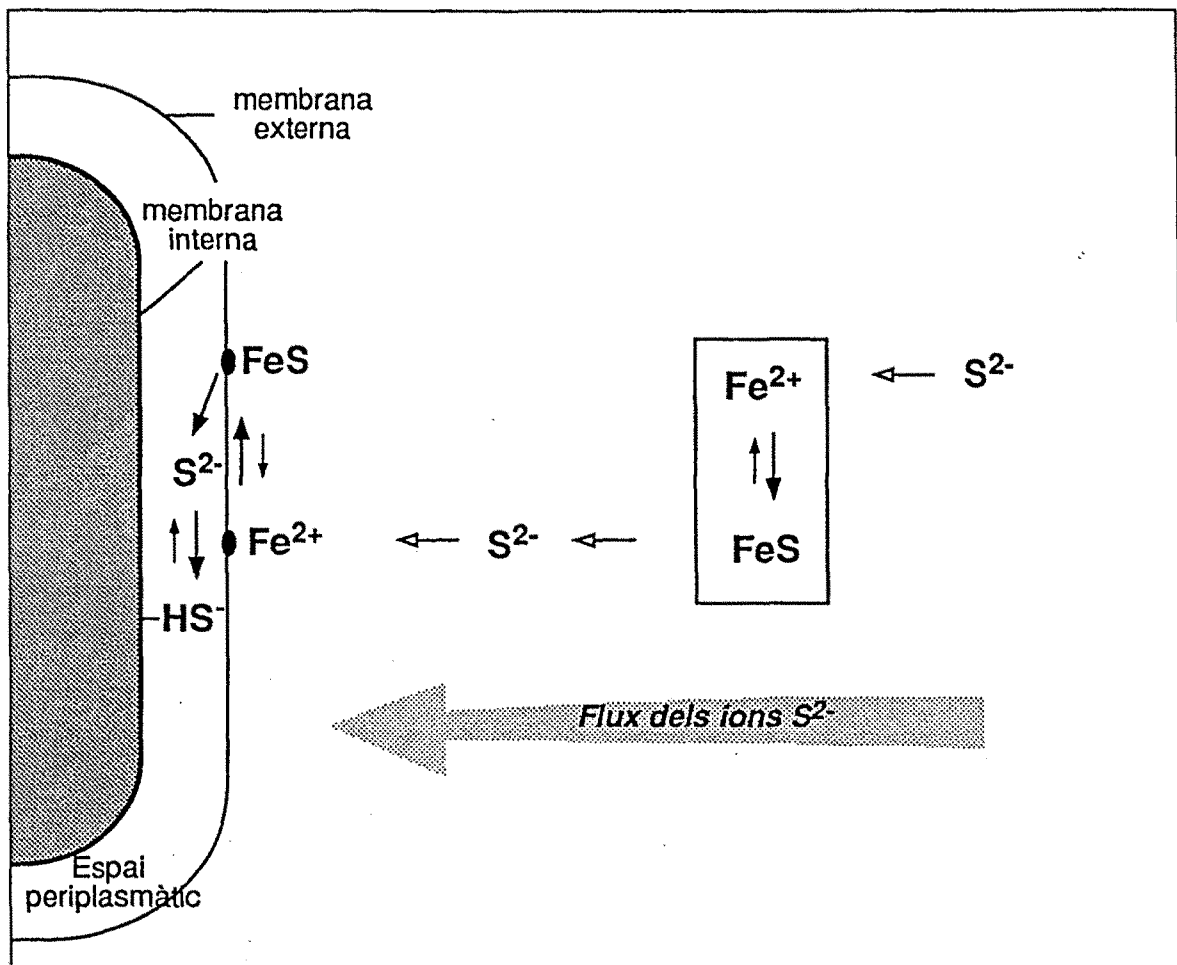
aprofitant l'alta afinitat existent entre aquest i el sulfhídric, que supera la del propi bacteri, per assegurar-se el subministrament de sulfur, mitjançant la precipitació al seu exterior de FeS, tal i com es descriu a la figura 6.25. Segons aquesta hipòtesi, el ferro unit a l'exterior de les cèl·lules actuaria de "trampa" d'ions  $S^{2-}$  els quals s'utilitzen com a donador d'electrons. Durant el metabolisme a les fosques, *Chlorobium* es capaç de reduir els sulfats i el sofre elemental a sulfhídric. Aquesta respiració endògena s'ha comprovat al laboratori en comprovar com cultius de *Chlorobium* amb  $Fe^{2+}$  al medi, posats a les fosques durant unes setmanes, s'enfosquien sensiblement com a conseqüència de l'aparició d'ions sulfur i la immediata formació de FeS. El sulfhídric produït com a resultat de la respiració endògena, quedaria en part "atrapat" a l'exterior de la cèl·lula en forma de FeS quedant en disposició de ser utilitzat amb presència de llum. També l'activitat sulfat-reductora a la columna d'aigua (Brugada i Montesinos, 1987) pot aportar  $H_2S$  a les cèl·lules de *Chlorobium*.

Amb el ferro a l'exterior per captar ions  $S^{2-}$  obvien la competència amb el  $Fe^{2+}$  del medi pel sulfur i a més desplacen l'equilibri cap a la formació de més FeS provenent del medi. Aquesta dinàmica es mostra a la figura 6.26. Els bacteris utilitzen el sulfur lliure que en forma de  $HS^-$  els entra a l'espai periplasmàtic (Van Gemerden, 1984). El consum continu fa que el balanç químic dels ions  $S^{2-}$  presents al medi tingui un desplaçament cap a la cèl·lula.

El ferro actuaria com un intermediari en el transport dels electrons del  $H_2S$  cap a la cèl·lula, en un sistema en el que s'estableix un "steady state" o equilibri dinàmic entre el consum dels sulfurs i la unió d'aquests al ferro de l'exterior. D'aquesta manera, la cèl·lula aprofita la combinació entre l'alta afinitat del  $Fe^{2+}$  per l'ió sulfur i l'alta velocitat d'utilització d'aquest compost que li dona el seu sistema enzimàtic.

Sota aquesta òptica, la capacitat de les Clorobiàcies d'unir ferro a l'exterior pot interpretar-se com una adaptació a unes condicions que es poden considerar poc favorables per a elles, la qual cosa els conferiria una avantatge selectiva en front de les Cromatiàcies. Això explicaria el fet de trobar, en tots els casos estudiats fins ara, denses poblacions de Clorobiàcies en ambients ferrosos extremadament pobres en sulfhídric. La selecció de Clorobiàcies en front de Cromatiàcies, pot també veure's ajudada pel fet que en aquests ambients el FeS contingut a la columna d'aigua extingeix la llum quasi totalment.

Les mateixes propietats envers el ferro no semblen aplicables a les Croma



**Figura 6.26.** Representació esquemàtica del sistema d'utilització del ferro unit a la cèl.lula per a l'obtenció d'ions sulfur en un ambient ferrós, amb concentracions de  $H_2S$  extremadament baixes. El consum continu de  $HS^-$  desplaça l'equilibri i el flux d'ions sulfur cap a la cèl.lula. **PS-I:** Fotosistema I. **Figure 6.26.** Conceptual model of iron attached system used by Chlorobiaceae to capture sulfide ions in ferrous iron-rich environments with extremely low concentrations of  $H_2S$ . Continuous consumption of  $HS^-$  displaces the equilibrium and the sulfide ions flux towards the cell. **PS-I:** photosystem I.

tiàcies, si bé existeix informació contradictòria al respecte. Per una banda, segons algunes proves fetes, *Chromatium* no és capaç de clarificar un medi amb FeS, tal i com ho fan *Chlorobium phaeobacteroides* i *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum* (Rodrigo, comunicació personal). No obstant, no s'ha de descartar la possibilitat que el medi amb FeS sigui excessivament fosc per *Chromatium*, convertint la llum amb un factor limitant, sobre tot tenint en compte que aquest gènere es veu afavorit per les altes intensitats lumíniques. Caldria doncs repetir l'experiment amb una intensitat lluminosa més gran. D'altra banda, Van Gemerden i de Wit (1986) descriuen un experiment en el que *Chromatium*, creixent amb FeS, és capaç de desplaçar l'equilibri cap a la dissociació de  $Fe^{2+}$  i  $S^{2-}$ , i utilitzar els electrons d'aquest darrer. En qualsevol cas, no es fa menció explícita a una relació directa de *Chromatium* amb el ferro. Segons els resultats obtinguts al present treball, no sembla existir tal relació, al menys amb la intensitat posta de manifest per a *Chlorobium*.

La paret bacteriana, ja sigui dels Gram + o Gram -, té una capacitat innata d'unir metalls a la seva superfície. Beveridge (1986) ja apunta la possibilitat d'aprofitar industrialment aquesta facultat, en observar que alguns bacteris Gram + del gènere *Bacillus* poden netejar l'aigua d'ions solubles. En aquesta línia, les propietats de les Clorobiàcies en front a altres metalls com el manganès o els pesats (Cu, Pb, Hg, Cd, etc...) han de constituir, en un futur, l'objecte d'un estudi més profund. Si mostressin una afinitat similar per aquests metalls, no fora exagerat pensar en les Clorobiàcies com un sistema net, eficaç i barat d'eliminar passivament metalls pesants dissolts a aigües residuals anòxiques.



## **7. Conclusions**



Tot seguit es presenten les principals conclusions d'aquest treball:

**1.** Les tres cubetes estudiades C-III, C-IV i C-VI experimenten un mateix patró de distribució tèrmica, comú per a tot l'estany. C-III i C-IV són cubetes meromíctiques crenogèniques, si bé aquesta última es mescla quasi totalment quedant el seu monimolimnion confinat als forats on es localitzen les surgències, amb un gruix no superior als dos metres. Pel contrari, C-VI es comporta com una cubeta holomíctica experimentant una mescla total durant el període hivernal.

**2.** El cicle limnològic anual de les cubetes pot dividir-se en tres períodes, en base a la dinàmica observada de les principals variables físico-químiques i biològiques. Les variables mesurades sofreixen variacions significatives en relació a aquests períodes.

- *Mescla i càrrega:* És hivernal i està caracteritzat per la mescla de la columna d'aigua, la circulació vertical dels nutrients i la càrrega superficial d'aquests com a conseqüència de les pluges,

- *Producció:* És primaveral i es caracteritza fonamentalment pel creixement de denses poblacions de fitoplancton, l'establiment de l'estratificació tèrmica i el restabliment del monimolimnion a C-IV.

- *Anòxia:* Comprén l'estiu i la tardor amb esgotament de l'oxigen dissolt per sota la termoclina, acumulació de sulfhídric i altres substàncies reduïdes i aparició de poblacions de bacteris fototròfics del sofre.

**3.** Les variables que canvien segons els períodes establerts són: temperatura, pH, potencial redox, concentració d'oxigen dissolt i concentració de Clorofil·la  $a$ , com a indicador de la biomassa algal. L'ajustament d'aquestes variables als períodes descrits anteriorment permet efectuar una primera aproximació a l'hora de modelar el funcionament limnològic de l'Estany de Banyoles. Pel contrari, aquests diferents períodes no justifiquen els canvis en variables com la concentració de nitrats, considerada com indicadora del nivell de nutrients de l'Estany, i la conductivitat. Aquestes dues variables responen a



fenòmens més aleatoris i incontrolats com poden ser les precipitacions.

4. No es produeixen diferències significatives entre C-VI i els mixolimnia de C-III i C-IV, presentant un cicle limnològic anual comú i suggerint, per extensió, que és el mateix per a tot l'Estany de Banyoles. Cal pensar, doncs, que l'aigua superficial de l'Estany de Banyoles, entesa com la continguda en una columna de 14 metres de fondària des de la superfície, evoluciona de manera uniforme al llarg del temps, independentment de la cubeta a la qual pertany.

5. La cubeta IV, a diferència de les altres estudiades, C-III, i C-VI presenta un cicle biogeoquímic del ferro ben desenvolupat que es manifesta mitjançant l'acumulació de  $\text{Fe}^{2+}$  al seu monimolimnion durant la primera meitat del període d'estratificació. A tots els compartiments estudiats (sediment compacte, sediment en suspensió i aigua) les quantitats de ferro són també més grans a C-IV que a la resta de les cubetes. Atesa la procedència del ferro, C-IV representa un tipus mixte combinant ferro al·lòcton i ferro autòcton, acollint un cicle confinat en el temps i l'espai. Al monimolimnion d'aquesta cubeta, es produeix una alternança temporal dels cicles del ferro i del sofre. Durant la primavera i el principi d'estiu s'ha constatat una acumulació de ferro soluble, el qual és substituït pel sulfhídric després de la precipitació del primer en forma de  $\text{FeS}$ . La presència de  $\text{Fe}^{2+}$  a la columna d'aigua de C-IV és deguda a dos factors principalment:

(a): Condicions de pH i redox al monimolimnion durant un període de temps suficientment llarg per afavorir l'alliberament de ferro soluble des del sediment i la posterior acumulació a la columna d'aigua,

(b): L'entrada de  $\text{Fe}^{2+}$  per una de les seves surgències ( $S_4$ ) és unes 50 vegades superior a la mesurada a la resta de les cubetes i representa prop del 40 % del total de les entrades de ferro a C-IV.

6. El  $\text{Fe}^{2+}$  i el  $\text{H}_2\text{S}$  coexisteixen en solució en concentracions superiors a les esperades segons el producte de solubilitat del  $\text{FeS}$ . Els valors de pKs oscil·len majoritàriament entre 2 i 3, i coincideixen amb els calculats per altres autors a diferents llacs. La combinació entre aquests compostos és inicialment  $\text{FeS}$  amorf (mackinawita) el qual es pot trobar en suspensió a l'aigua, formant agregats de mida variable. Aquest  $\text{FeS}$  amorf sofreix un procés de diagènesi pel qual es converteix en formes cada vegada més insolubles de sulfur de ferro com són el  $\text{FeS}$  tetragonal i  $\text{Fe}_3\text{S}_4$  hexagonal.

**7.** La dinàmica del ferro a C-IV pot modelar-se cinèticament a partir dels càlculs de les velocitats d'aport i de pèrdua de  $\text{Fe}^{2+}$  al sistema. A C-IV aquesta dinàmica comprèn tres fases ben diferenciades que són:

a: l'acumulació de  $\text{Fe}^{2+}$  a una velocitat constant,

b: la desaparició del ferro acumulat a una velocitat variable, depenent de la velocitat d'entrada per les surgències (considerada constant) i de la velocitat de producció de sulfhídric, la qual a la vegada augmenta al llarg del temps i

c: l'acumulació de  $\text{H}_2\text{S}$  a velocitat constant una vegada precipitat el  $\text{Fe}^{2+}$  en forma de  $\text{FeS}$

**8.** Partint de la base que, a excepció del ferro, no existeixen diferències significatives entre el quimisme de C-III, C-IV i C-VI, els paràmetres físics són els que tenen una incidència més gran en el desenvolupament dels bacteris fototròfics del sofre. Durant 1988, la llum s'ha mostrat com un factor limitant per al creixement dels bacteris fototròfics per sota dels 17 metres de fondària. Les tres cubetes mostren un patró diferent d'estratificació, el qual s'ha de considerar com un factor dinàmic en el seu cicle, mitjançant el qual l'oxiclina experimenta un desplaçament cap amunt en l'eix vertical del sistema que varia en funció de la cubeta. Aquest moviment cap amunt de l'oxiclina fa que la llum deixi de ser un factor limitant, permetent el creixement dels bacteris fototròfics del sofre.

**9.** Els bacteris fototròfics del sofre incrementen el contingut relatiu de carotenoides (proporció carotenoides/bacterioclorofil·les) com a resposta a un descens en la quantitat de llum al lloc on creixen. Tant les Clorobiàcies com les Cromatiàcies responen d'una manera similar, variant conjuntament l'esmentada proporció en funció de les condicions externes.

**10.** A la quimioclina de C-IV, la distribució horitzontal dels bacteris fototròfics del sofre no és homogènia, habent-se detectat concentracions més altes als punts situats sobre les surgències. Aquest fet s'interpreta com un reflex del creixement previ d'aquest microorganismes, quan el monimolimnion està confinat, a causa de la mescla hivernal, al "forat" que formen les surgències.

**11.** Els bacteris fototròfics del sofre poden desenvolupar-se bé en ambients amb altes concentracions de ferro soluble  $\text{Fe}^{2+}$ , malgrat que sota aquestes condicions el sulfhídric ( $\text{H}_2\text{S}$ ) lliure està present a concentracions extremadament baixes. Al monimolimnion de la cubeta IV de l'estany de

Banyoles s'ha observat durant part de l'estiu de 1988 una densa població de *Chlorobium phaeobacteroides* sota unes condicions químiques marcades per la presència de ferro soluble ( $\text{Fe}^{2+}$ ) i l'absència de  $\text{H}_2\text{S}$  detectable en la seva forma lliure. Aquest fet s'ha observat també a l'Estanyol del Vilar, amb *Chlorobium phaeobacteroides*, a la Laguna de la Cruz (Cañada del Hoyo, Conca), amb *Pelodictyon clathratiforme* i al llac Vechten (Holanda) també amb Clorobiàcies verdes del gènere *Chloronema*.

**12.** En ambients ferrosos, sovint es troba un màxim de  $\text{Fe}^{2+}$  a la mateixa fondària on hi ha un màxim de Bacterioclorofil·les *c*, *d* o *e*, evidenciant una estreta relació entre ambdós tal com s'ha posat de manifest a la cubeta IV de l'estany de Banyoles, a l'Estanyol del Vilar i al Lake Vechten (Holanda). Aquest fet però, no es repeteix amb les Cromatiàcies les quals segueixen, dins els ambients citats, distribucions verticals completament diferents al  $\text{Fe}^{2+}$ .

**13.** Les imatges obtingudes al microscopi, tant òptic com electrònic, revelen que les Clorobiàcies posades en contacte amb un medi que contingui  $\text{Fe}^{2+}$  uneixen aquest element al seu exterior. Aquesta capacitat no havia estat descrita amb anterioritat. La unió es produeix de forma passiva i molt ràpida, encara que les cèl·lules inactivades mostren dificultats per a mantenir aquest ferro unit al seu exterior. Aquesta observació es veu recolçada per la situació observada a l'Estanyol del Vilar, on el contingut específic de ferro d'una població de *Chlorobium phaeobacteroides* disminueix a mida que aquesta anava desapareixent i essent substituïda per una altra de *Chromatium*. Les suspensions bacterianes de *Chlorobium* poden unir al seu exterior el ferro afegit al medi fins arribar a saturar-se a concentracions per sobre de  $100 \mu\text{M}$ .

**14.** En condicions de laboratori, les Clorobiàcies no utilitzen el  $\text{Fe}^{2+}$  com a donador d'electrons en la fotosíntesi anoxigènica, encara que hom desconeix si en presència d'un gradient d'oxigen podrien desenvolupar un metabolisme quimioautolitotrófic, sobre tot si es té en compte que aquest tipus de metabolisme pot observar-se en algunes espècies de la família de les Cromatiàcies.

**15.** Les Clorobiàcies incubades a la llum, són capaces d'oxidar una suspensió de  $\text{FeS}$ , clarificant el medi. Aquesta oxidació es produeix de forma biològica, anoxigènica i lligada a condicions d'il·luminació, per la qual cosa es conclueix que el  $\text{FeS}$  pot ser utilitzat fotosintèticament com a font d'ions sulfur per la fotosíntesi anoxigènica de les Clorobiàcies. Quant a les cinètiques d'utilització del  $\text{FeS}$ , la  $V_{\text{max}}$  calculada per a *Chlorobium phaeobacteroides* és més alta que la de *Chlorobium limicola* f. *thiosulfatophilum*.

i 16. La capacitat de les Clorobiàcies d'unir ferro al seu exterior pot representar una estratègia ecològica i fisiològica d'aquest grup que els conferiria un avantatge en front altres grups, per desenvolupar-se en ambients ferrosos. L'alta afinitat pel sulfhídric d'aquest grup unida a la possibilitat d'acumular ferro al seu exterior i l'eficiència enzimàtica en l'oxidació fotosintètica de  $\text{HS}^-$  a l'espai periplasmàtic, fa que *Chlorobium* pugui establir un equilibri dinàmic amb la química del seu entorn en el qual es produeix un flux net d'ions sulfur cap a la cèl.lula. D'aquesta manera poden competir amb èxit amb l'alta afinitat química existent entre els ions  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{S}^{2-}$ .





## **8. Bibliografia**



- ABELLÀ, C. 1980. *Dinamica poblacional comparada de bacterias fotosintéticas planctónicas*. Tesi Doctoral. U.A.B.
- ABELLA, C., E. MONTESINOS I R. GUERRERO, 1980. Field studies on the competition between purple and green sulfur bacteria for available light (Lake Sisó, Spain). *Developments in Hydrobiology*, **3**:173-181
- ABELLÀ, C.A., J. YLLA I E. MONTESINOS, 1986. Dissimilatory sulfate-reducing activity in lakes of Banyoles Karstic area (Girona). *Scientia gerundensis*, **12**:49-58
- AISLABIE, J. I M.W. LOUITT. 1986. Accumulation of Cr(III) by bacteria isolated from polluted sediments. *Mar. Environm. Res.* **20**:221-232
- ALLER, 1980. Diagenetic processes near the sediment-water interface of long island sound. II. Fe and Mn. *Advances in Geophysics*, **22**:351-415
- ANDERSON, G.C. 1958. Some limnological features of a shallow saline meromictic Lake. *Limnol. Oceanogr.* **3**:259-270
- ANTHONY, R.S., 1977. Iron rich rythmically laminated sediments in Lake of The Clouds (Minesota). *Limnol. Oceanogr.* **22**:351-357
- ARKESTEYN, G.J.M.W. 1980. *Contribution of microorganisms to the oxidation of pyrite*. Thesis Agricultural University Wageningen. The Netherlands. 80 pp.
- ASHTON, P.J. I F.R. SHOEMAN, 1988. Thermal stratification and the stability of meromixis in the Pretoria Salt Pan, South Africa. *Hydrobiologia* **158**:253-265.
- ATLAS, R.M. I R. BARTHA, 1981. *Microbial Ecology: fundamentals and applications*. Addison-Wesley Publishing Company, pp:135-141
- BANOUB, M.W. 1976. Experimental investigation on the release of phosphorous in relation to iron in freshwater/mud system. **In**: *Interactions between sediment and freshwater*. Ed. H.L. Golterman. Dr. Junk Publ.
- BARLETT, J. I W. SKOOG, 1954. Colorimetric determination of elemental sulfur in hydrocarbons. *Anal. Chem.* **26**:1003-1011
- BERGSTEIN, T. 1986. Physiological aspects of high sulfide tolerance in a pho-



- tosynthetic bacterium. In: *Green phototrophic bacteria*. J.M. Olson, J.G. Ormerod, J. Asmez, E. Stackebrandt and H.G. Trüper (eds.). pp:295-303. Plenum.
- BERNER, R.A. 1967. Thermodynamic stability and sedimentary iron sulfides. *Am. J. Sci.* **265**:773-785
- BERNER, R.A., 1970. Sedimentary pyrite formation. *Am. J. Sci.* **268**:1-23
- BEVERIDGE, T.J. 1986. The immobilization of soluble metals by bacterial walls. *Biotechnology and Bioengineering Symp.* No. 10. John Wiley & Sons. N.Y. pp. 127-139
- BEVERIDGE, T.J., i S.F. KOVAL, 1981. Binding of metals to cell envelopes of *Escherichia coli* K12. *Appl. Environm. Microbiol.* **42**:325-335
- BEVERIDGE, T.J.; M. SARA, D. PUM, G.D. SPROTT, M. STEWART i U. B. SLEYTR, 1988. The structure, chemistry and physicochemistry of the *Methanospirillum hungatei* GP1 sheath. In: *Crystalline Bacterial Cell Surface Layers*. ed U.B. Sleytr, P. Messner, D. Pum, M. Sara, pp. 26-30. Berlin: Springer Verlag
- BITTON, G. i V. FRIEHOFFER, 1978. Influence of extracellular polysaccharide on the toxicity of copper and cadmium toward *Klebsiella aerogenes*. *Microb. Ecol.* **4**:119-125
- BMDP *Statistical software*. 1981. W.J. Dixon (ed.) University of California Press. Los Angeles.
- BØYUM, A. 1970. Iron metabolism in two basins of a lake near Oslo, Norway. *Nordic Hydrology*, **3**:158-180
- BØYUM, A. 1973. Salsvatn, a lake with old sea water. *Schw. Zeitschrift für Hydrologie*. **35**:262-277
- BRANNON, J.M., D. GUNNISON, R.M. SMART i L. CHEN. 1984. Effects of added organic matter on iron and manganese redox systems in sediments. *Geomicrobiology Journal* **3**:319-341
- BREMMENG, G.S., 1974. Strandvatn, Northern Norway, a Lake with old seawater. *Schweiz. Zeit. Hydrol.* **36**:351-356
- BROCH-DUE, M., J.G. ORMEROD i B.S. FJERDINGEN, 1978. Effect of light intensity of vesicle formation in *Chlorobium*. *Arch. Microbiol.* **116**:269-274

- BROCK, T.D., 1975. Biogeochemistry and bacteriology of ferrous iron oxidation in geothermal habitats. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, **40**:493-500
- BRUGADA, D. 1986. *Metabolisme del sofre i funció detoxificadora dels bacteris a l'estanyol del Vilar (Banyoles)*. Tesina de Llicenciatura, U.A.B.
- BRUGADA, D. y E. MONTESINOS, 1987. Función destoxificadora de sulfhídrico de la comunidad fototrófica metalimnética de la Laguna del Vilar (Banyoles). *Actas del IV Congreso Español de Limnología*. Sevilla. pp:95-104
- BRUNET, R.C., L.J. GARCIA-GIL i C.A. ABELLÀ, 1985. Noves cubetes surgents a l'Estany de Banyoles: VI, VII i VIII. *SCIENTIA gerundensis*, **11**:91-99
- BRUNSKILL, G.J., 1969. Fayetteville Green Lake, N.Y. II. Precipitation and sedimentation of calcita in a meromictic lake with laminated sediments. *Limnol Oceanogr.* **14**:830-847
- BÜHRER, H. i H. AMBÜHL, 1975. Einleitung von Abwasser in Seen. *Schweiz. Z. Hydrol.* **37**:347-369.
- BUSCEMI, P.A. 1958. Litoral oxygen depletion produced by a cover of *Elodea canadensis*. *Oikos*, **9**:239-245
- CASAMITJANA, X., 1989. *Dinàmica física de les cubetes surgents de l'Estany de Banyoles*. Tesi Doctoral. U.A.B.
- CASAMITJANA, X., E. ROGET, D. JOU i J.E. LLEBOT, 1988. Effect of the suspended sediment on the heating of Lake Banyoles. *J. Geophys. Res.* **93**:9332-9336
- CLOERN, J.E., B.E. COLE i R.S. OREMLAND, 1983. Seasonal changes in the chemistry of a meromictic lake (Big Soda Lake, Nevada, USA). *Hydrobiologia* **105**:195-206
- COHEN, Y. 1986. Interactions of cycles of C, O, S and Fe in hypersaline cyanobacterial mats. *Proc. IV ISME*, 213-217
- COHEN, Y., W.E. KRUMBEIN, M. GOLDBERG i M. SHILO, 1977. Solar Lake (Sinai). 1. Physical and chemical limnology. *Limnol. Oceanogr.* **22**:597-608
- COTTON, F.A. i G. WILKINSON, 1980. *Advanced inorganic chemistry* (4th. edition). John Wiley & Son. New York. pp:751-752

- COUNOTTE, G.H.M. i R.A. PRINS. 1979. Calculation of Km and Vmax from substrate concentration versus time plot. *Appl. Environm. Microbiol.* **38**:758-760
- CROSS, P.M. i F.H. RIGLER, 1983. Phosphorous and iron retention in sediments measured bu mass budget calculations and directly. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* **40**: 1589-1597
- CULVER, D.A. 1977. Biogenic meromixis and stability in a soft-water lake. *Limnol. Oceanogr.* **22**:667-686
- DAVIES, J.A., G.K. ANDERSON., BEVERIDGE, T.J. i H.C. CLARKE, 1983. Chemical mechanism of the Gram stain and synthesis of a new electron-opaque marker for electron microscopy which replaces the iodine mordant of the stain. *J. Bacteriol.* **156**:837-845
- DAVISON, F.G. i D. HARRISON, 1971. *Fluidization*. Academic Press. London
- DAVISON, W. 1980. A critical comparison of the mesasured solubilities of ferrous sulphide in natural waters. *Geochim. Cosmochim Acta*, **44**:803-808
- DAVISON, W. 1981. Supply of iron and manganese to an anoxic lake basin. *Nature* **290**:241-243
- DAVISON, W. i S.I. HEANEY, 1978. Ferrous iron-sulphide interactions an anoxic hypolimnetic waters. *Limnol. Oceanogr.* **23**:1194-1200
- DAVISON, W. i S.I. HEANEY, 1980. Determination of the solubility of ferrous sulfide in a seasonally anoxic marine basin. *Limnol. Oceanogr.* **25**:153-156
- DAVISON, W., C. WOOF i E. RIGG, 1982. The dynamics of iron and manganese in a seasonally anoxic lake; direct measurements of fluxes using sediment traps. *Limnol. Oceanogr.* **27**:987-1003
- DAVISON, W., S. I. HEANEY, J.F: TALLING i E. RIGG, 1980. Seasonal transformation and movements of iron in a productive English lake with deep-water anoxia. *Schweiz Z: Hydrol.* **42**:196-224
- DELDON, C. 1986. *Diploma Thesis*. University of Zürich.
- DOEMEL, W.N. i T.D. BROCK, 1976. Vertical distribution of sulfur species in benthic algal mats. *Limnol. Oceanogr.* **21**:237-244

- DOYLE, R.W. 1968. Identification and solubility of iron sulfide in anaerobic lake sediments. *Am. J. Sci.* **266**:980-994
- DREVER, J.I. 1982. *The geochemistry of natural waters*. 388 pp. Prentice-Hall Internat. Inc. London.
- EICHLER, B. i N. PFENNIG, 1986. Characterization of a new platelet-forming purple sulfur bacterium, *Amoebobacter pedoformis* sp. nov. *Arch. Microbiol.* **146**:295-300
- ELLAWAY, M., R. BECKETT i T. HART, 1980. Behaviour of Iron and manganese in the Yarra estuary. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* **31**:597-609.
- ELLIS, A.J. i W. GIGGENBACH, 1971. Hydrogen sulphide ionization and sulfur hydrolysis in high temperature solution. *Geochim. et Cosmochim. Acta.* **35**:247-260
- ELLIS-EVANS, J.C. i E.C.G. LEMON, 1989. Some aspects of iron cycling in maritime antarctic lakes. *Hydrobiologia* **172**:149-164
- EMERSON, R i C.M. LEWIS, 1942. The photosynthetic efficiency of phycocyanin in *Chroococcus* and the problem of carotenoid participation in photosynthesis. *J. gen. Physiol.* **25**:579-595
- EMERSON, S., R.E CRANSTON i P.S. LISS, 1979. Redox species in a reducing fjord: equilibrium and kinetic considerations. *Deep-sea research* **26A**:859-878.
- EMERSON, S., L. JACOBS i B. TEBO, 1983. The behaviour of trace metals in marine anoxic waters: Solubilities at the oxygen-hydrogen sulphide interface. In: *Trace metals in sea water*. Wong, Boyle, Broland, Burton and Goldberg (Eds.) Plenum.
- ESTEVE, I. 1981. *Caracterización morfológica y ultraestructural de poblaciones de bacterias fotosintéticas planctónicas*. Tesis doctoral. U.A.B.
- FAST, A.W. i P.A. TYLER, 1981. The re-establishment of meromixis in Hemlock Lake, Michigan, after artificial destratification. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **66**:512-520
- FERALA, N.F., A.K. CHAMPLIN i F.A. FEKETE, 1986. Morphological differences in the capsular polysaccharide Of nitrogen-fixing *Azotobacter chroococcum* B-8 as a function of iron and molybdenum starvation. *FEMS Microbiol. Lett.* **33**:137-142

- FERRIS, F.G. 1989. Metallic ion interactions with the outer membrane of Gram-negative bacteria. *In: Metal Ions & Bacteria*. T.J. Beveridge and R.J. Doyle (eds.) pp:295-323. John Wiley & Sons. N.Y.
- FERRIS, F.G., K. TAZAKI i W.S. FYFE, 1989. Iron oxides in acid mine drainage environments and their association with bacteria. *Chem. Geol.* **74**:321-330.
- FREIFELDER, D. 1976. *Physical biochemistry. Applications to Biochemistry and Molecular Biology*. W.H. Freeman & Co. S. Francisco.
- GARCIA-GIL, L.J. i C.A. ABELLÀ, 1986. Growth parameters in green phototrophic bacteria pure cultures: a study on "in vivo" absorption values. *Scientia Gerundensis*, **12**:59-66
- GARCIA-GIL, L.J., R. Moreno-Amich i C.A. Abellà, 1990. Aporte de nutrientes por los tributarios superficiales del Lago de Banyoles. *Actas del V Congreso Español de Limnología*. (en premsa)
- GASOL, J.M. 1988. *Eologia microbiana a l'Estanyol d'en Cisó*. Tesi Doctoral. U.A.B.
- GEESEY, G.G. i L. JANG, 1989. Interactions between metal ions and capsular polymers. *In: Metal ions and Bacteria*. T. J. Beveridge and R. J. Doyle (eds.) pp:325-357. John Wiley & Sons. N.Y.
- GHIORSE, W.C. 1984. Biology of iron- and manganese-depositing bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* **38**:515-550
- GHIORSE, W.C. i P. HIRSCH, 1978. Iron and manganese desposition by budding bacteria. *In: Environmental biogeochemidtry and geomicrobiology. vol 3: Methods, metals and assessments*. W.E. Krumbein (ed.) pp. 897-909. ANN ARBOR SCIENCE
- GHIORSE, W.C. i P. HIRSCH, 1979. An ultrastuctutal study of iron and manganese deposition assiciated with extracellular polymers of Pedomicrobium-like budding bacteria. *Arch. Microbiol.* **123**:213-226
- GIBLIN. A.E. i R.W. HOWARTH, 1984. Porewater evidence for a dynamic sedimentary iron cycle in salt marshes. *Limnol. Oceanogr.* **29**:47-63
- GLOE, A. N. PFENNIG, H. BROCKMANN, Jr. i W. TROWITZSCH, 1975. A new Bacteriochlorophyll from Brown-Colored Chlorobiaceae. *Arch. Microbiol.* **102**:103-109

- GLOVER, H.E. 1978. Iron in marine coastal waters and its apparent correlation with a dinoflagellate bloom. *Limnol. Oceanogr.* **23**:534-537
- GOLDHABER, M.B. i I.R. KAPLAN, 1974. The sulphur cycle. In: Goldberg, E.D. (Ed) *The sea*. vol 5. pp 569-655. John Wiley and Sons. Ney York.
- GOLDMAN, C., D.T. MASON i J.E. HOBBIE, 1967. Two Antarctic desert lakes. *Limnol. Oceanogr.* **12**:295-310
- GOLTERMAN, H.L. 1977. Sediments as a source of phosphate for algal growth. In: *Interactions between sediments and freshwater*. Dr. Junk B.V. Publishers. The Hague
- GORLENKO, V.M. 1974. The oxidation of thiosulphate of *Amoebobacter roseus* in the dark under microaerobic conditions. *Mikrobiologiya.* **43**:729-731
- GUERRERO, R., C. PEDROS-ALIO, I. ESTEVE i J. MAS, 1987. Communities of phototrophic bacteria in lakes of the Spanish Mediterranean region. *Acta Academiae Aboensis* **47**(2):125-151
- GUERRERO, R., E. MONTESINOS, I. ESTEVE i C. ABELLA, 1980. Physiological adaptations and growth of purple and green sulfur bacteria in a meromictic lake (Vilà) as compared to a holomictic lake (Sisó). *Developments in Hydrobiology*, **3**:161-171
- GUTERMAN, H. i S. BEN-YAAKOV, 1983. Determination of total dissolved sulfide in the pH range 7.5 to 11.5 by Ion Selective Electrode. *Analytical Chemistry* **55**:1731-1734
- HAMMER, U.T., R.C. HAYNES, J.R. LAWRENCE i M.C. SWIFT, 1978. Meromictic ind Waldsea Lake, Saskatchewan. *Verh. Internat. Verei. Limnol.* **20**:192-200
- HANCOCK, R.E.W., 1987. Role of porins in outer membrane permeability. *J. Bacteriol.* **169**:929-933
- HAND, R.M. i H.R. BURTON, 1981. Microbial ecology of an Antarctic sline meromictic lake. *Hydrobiologia*, **82**:363-374

- HAZEU, W., D.J. SCHMEDDING, O. GODDIJN, P. BOS i J.G. KUENEN, 1987. The importance of the sulfur oxidizing capacity of *Thiobacillus ferrooxidans* during leaching of pyrite. In: Neijssel, O.M., R.R. van der Meer and K.Ch.A.M. (Eds) *Proceedings 4th European Congress on Biotechnology*. vol.3 Elsevier. Amsterdam
- HERBERT, D., P.J. PHIPPS i R.E. STRANGE. 1975. Chemical analysis in microbial cells. In: *Methods in Microbiology*. vol 5. Academic Press
- HILTUNNEN, P., A. VOURINEN, P. REHTIJÄRVI, i O. TUOVINEN, 1981 bacterial pyrite oxidation: release of iron and scanning electron microscopic observations. *Hydrometallurgy* 7:147-157
- HOLT, C.S. i A.G. MARR, 1965. Effect of light intensity on the formation of intracytoplasmic membranes in *Rhodospirillum rubrum*. *J. Bacteriol.* 83:1421-1429
- HONGVE, D., 1974. Hydrographical features of Nordbytjernet, a manganese-rich meromictic lake in SE Norway. *Arch. Hydrobiol.* 74:227-246
- HOYLE, B.D. & T.J. BEVERIDGE, 1983. Binding of metallic ions of the outer membranes of *Escherichia coli*. *Appl. Environm. Microbiol.* 46:749-52
- HOYLE, B.D. & T.J. BEVERIDGE, 1984. Metal binding by the peptidoglycan sacculus of *Escherichia coli* K-12. *Can. J. Microbiol.* 30:204-211
- HUMPHREY, G.F i M. WOOTON, 1966. Comparison techniques used in the determination of phytoplankton pigments. *Report SCOR-UNESCO*. Paris.
- HUTCHINSON, G.E. 1957. *A treatise on Limnology*. John Wiley and Sons
- JAVOR, B.J. i R.W. CASTENHOLZ, 1981. Laminated microbial mats, Laguna Guerrero Negro, Mexico. *Geomicrobiol. J.*, 2:237-273
- JENSEN, A. O. AASMUNDRUD i K.E. EIMHJELLEN, 1964. Chlorophylls of photosynthetic bacteria. *Biochim. Biophys. Acta*, 88:466-479
- JORGENSEN, B.B. 1989. Biogeochemistry of chemoautotrophic bacteria. In: *Autotrophic bacteria*. H.G. Schlegel and B. Bowien (eds.). Springer Verlag. New York
- JORGENSEN, B.B. i Y. COHEN, 1977. Solar Lake (Sinai). 5. The sulphur cycle of the benthic cyanobacterial mats. *Limnol. Oceanogr.* 22:657-666

- JORGENSEN, B.B., J.G. KUENEN i Y. COHEN, 1979. Microbial transformations of sulfur compounds in a stratified lake (Solar lake, Sinai). *Limnol. Oceanogr.* **24**:799-822
- JORGENSEN, S.E. 1986. *Fundamentals of ecological modeling*. Elsevier. New York.
- JULIÀ, R. 1980. *La conca lacustre de Banyoles-Besalú*. Monografies del Centre d'Estudis Comarcals de Banyoles.
- KÄMPF, C.N. i N. PFENNIG, 1980. Capacity of Chromatiaceae for chemotrophic growth. Specific respiration rate of *Thiocystis violacea* and *Chromatium vinosum*. *Arch. Microbiol.* **127**:125-135
- KÄMPF, C.N. i N. PFENNIG, 1986. Isolation and characterization some chemoautotrophic Chromatiaceae. *J. Basic. Microbiol.* **26**:517-531.
- KING, R.D. i P.A. TYLER, 1981. Meromictic Lakes of South-west Tasmania. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* **32**:741-756
- KJENSMO, J. 1967. The development and some main features of 'iron-meromictic' soft water lakes. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* **32**:137-312
- KJENSMO, J. 1988. Recent sediments in the iron meromictic lake Skjenungen. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **23**:435-439
- KONDRATIEVA, E.N.; R.N. IVANOVSKY i E.N. KRASILNIKOVA, 1981. Light and dark metabolism in purple sulfur bacteria. pp:326-365. In: Skulachev, V.P. (ed.) *Soviet Science Reviews Section D. Biology Reviews*.
- KUENEN, J.G. i P. BOS, 1989. Habitats and ecological niches of chemoautotrophic bacteria. In: *Autotrophic bacteria*. Schelegel, H.G. and Bowien, B. (eds.) pp:53-80. Springer Verlag
- LAHANN, R.W. 1977. Molybdenum and iron behaviour in oxic and anoxic lake water. *Chem. Geol.* **20**:315-323.
- LARSEN, H. 1953. *On the microbiology and biochemistry of the photosynthetic green sulfur bacteria*. Tesi Doctoral.
- LJJKLEMA, L. 1976. The role of iron in the exchange of phosphate between water and sediments. A: *Interactions between sediment and freshwater*. Ed. H.L. Golterman. Dr. Junk Publ.



- LINDHOLM, T. i K. WEPPLING, 1987. Blooms of phototrophic bacteria and phytoplankton in a small brackish lake on Åland, SW Finland. *Acta Academiae Aboensis*, **47**:45-53
- LOVLEY, D.R. i E.J.P. PHILLIPS, 1986. Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments. *Appl. Env. Microbiol.* **51**: 683-689
- MARGALEF, R. 1983. *Limnología*. Ed. Omega. Barcelona. pp:307-311
- MATSUYAMA, M. 1977. Limnological features of Lake Kaiike, a small coastal lake on Kamikoshiki Island, Kagoshima Prefecture, Japan. *Ja. J. Limnol.* **38**:9-18
- MATSUYAMA, M. 1978. Limnological aspects of meromictic Lake Suigetsu: Its environmental conditions and biological metabolism. *Bull. Fac. Fish.* **44**:1-66. Nagasaki University.
- MIRACLE, M.R. 1973. *Distribución en el espacio y el tiempo de las especies de zooplancton del lago de Banyoles*. Monografías de ICONA (Madrid)
- MIRACLE, M.R. i E. VICENTE, 1983. Vertical distribution and rotifer concentrations in the chemocline of meromictic lakes. *Hydrobiologia* **104**:259-267
- MONTESINOS E. 1982. *Ecofisiología de la fotosíntesis bacteriana*. Tesis Doctoral. U.A.B.
- MONTESINOS, E. i H. VAN GEMERDEN, 1986. The distribution and Metabolism of planktonic phototrophic bacteria. *Proc. IV ISME*. pp 349-359
- MONTESINOS, E. 1982. *Ecofisiología de la fotosíntesis bacteriana*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- MONTESINOS, E., R. GUERRERO, C. ABELLA i I. ESTEVE, 1983. Ecology and physiology of the competition for light between *Chlorobium limicola* and *Chlorobium phaeobacteroides* in natural habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**:1007-1016
- MORENO-AMICH, R. i E. GARCIA-BERTHOUS, 1986. Tres noves surgències a l'Estany de Banyoles: IX, X, XI. *SCIENTIA gerundensis*, **12**:101-112

- MORENO-AMICH, R. i E. GARCIA-BERTHOU, 1989. A new bathymetric map based on echo-sounding and morphometrical characterization of the Lake of Banyoles (NE-Spain). *Hydrobiologia*. **185**:83-90
- MORTIMER, C.H. 1941. The exchange of dissolved substances between mud water in lakes. I and II. *J. Ecol.* **28**, 280 (1941)
- MORTIMER, C.H. 1942. The exchange of dissolved substances between mud water in lakes. II and III. *J. Ecol.* **30**, 147 (1941)
- MÜLLER, H.E. 1977. Observation of interactions between water and sediment with 30 KHz sediment echosounder. In: H.L. Golterman (ed.) *Interactions between sediments and freshwater*. Dr. Junk. La Haya
- MURRAY, J.W. i G. GILL, 1978. The geochemistry of iron in Puget Sound. *Geochim. et Cosmochim. Acta* **42**:9-19
- NEZELOF, C.; P. GALLE i N. HINGLAIS, 1975. *Técnicas microscópicas. Exámenes de laboratorio*. pp. 144-146. Ed Jims.
- NRIAGU, J.O. 1972. Stability of vivianite and iron-pair formation in the system  $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ . *Geochim. Cosmochim. Acta* **36**:459-470
- PANKOW, J.F. i J.J. MORGAN, 1979. Dissolution of tetragonal ferrous sulfide (Mackinawite) in anoxic aqueous systems. 1. Dissolution rate as a function of pH, temperature and ionic strength. *Env. Sci. Tech.* **13**: 1248-1255
- PANKOW, J.F. i J.J. MORGAN, 1980. Dissolution of tetragonal ferrous sulfide (Mackinawite) in anoxic aqueous systems. 2. Implications for the cycling of iron, sulfur, and trace metals. *Env. Sci. Tech.* **14**: 183-186
- PARKER, R.D. i U.T. HAMMER, 1983. A study of the Chromatiaceae in a saline meromictic lake in Saskatchewan, Canada. *Int. Revues ges. Hydrobiol.* **68**:839-851
- PARKIN, T.B. 1980. *Environmental factors affecting the growth of photosynthetic bacteria in lakes*. Tesi Doctoral. University of Wisconsin-Madison.
- PARKIN, T.B. i T.D. BROCK, 1980(a). Photosynthetic bacterial production in lakes: The effect of light intensity. *Limnol. Oceanogr.* **25**:711-718
- PARKIN, T.B. i T.D. BROCK, 1980(b). The effects of light quality on the growth of phototrophic bacteria in lakes. *Arch. Microbiol.* **125**:19-27

- PENDL, M.P., i K.M. STEWART, 1986. Variations in carbon fractions within a dimictic and a meromictic basin of the Junius Ponds, New York. *Freshwater Biology*, **16**:539-555
- PFENNIG, N. 1965. Anreicherungskulturen für Rote und Grüne Schwefelbakterium. *Zentralb. Bakteriol. Parasitendkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Suppl.* **1**:179-189
- PFENNIG, N. 1967. Photosynthetic bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* **21**:285-324
- PFENNIG, N. 1975. The phototrophic bacteria and their role in the sulfur cycle. *Plant and Soil*, **43**:1-16
- PFENNIG, N. 1977. Phototrophic green and purple bacteria: a comparative systematic survey. *Ann. Rev. Microbiol.* **31**:275-290
- PFENNIG, N. i H. TRÜPER, 1989. Anoxigenic phototrophic bacteria. **In**: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 3, Section 18, pp:1635-1709. Williams & Wilkins, Baltimore
- PLANAS, M.D. 1973. Composición, ciclo y productividad del fitoplancton en el lago de Banyoles. *Oecol. Aquat.* **1**:3-106
- PYZIC, A.J. i S.E. SOMMER, 1981. Sedimentary iron monosulfide: kinetics and mechanism of formation. *Geochim. et Cosmochim. Acta* **45**:687-698
- RICHARDS, F.A. 1965. Chemical observations in some anoxic sulfide bearing basins and fjords. *In Proc. Second Int. Water Pollution Res. Conf.* pp. 215-243. Pergamon
- RICHARDS F.A., J.D. CLINE, W.W. BROENKOW i L.P. ATKINSON, 1965. Some consequences of the composition of organic matter in lake Nitinat, an anoxic fjord. *Limnol. Oceanogr.* **10** (supl) R185-R201
- RIERA, X.G., A. DOMINGUEZ-PLANELLA, L. POLO, R. MORENO-AMICH, C.A. ABELLA, 1987. Dinámica de la meromixis en la laguna costera de La Massona (Alt Empordà, Girona). Ciclo anual e intrusiones marinas. *Actas IV Congreso Español de Limnología.* pp:55-64
- RIERA, X.G., L.J. GARCIA-GIL i C.A. ABELLÀ, 1988. Lake Vechten, Schleinsee and Buchensee as examples of west central european holomictic lakes containing phototrophic bacteria. *Scientia gerundensis*, **14**:57-69.

- ROBIE, R.A. 1966. Thermodynamic properties of minerals. *Mem. Am. Geol. Soc.* **97**:437-458
- ROGET, E. i X. CASAMITJANA, 1987. Cálculo de los caudales de entrada de agua por las cubetas en el Lago de Banyoles. *Actas IV Congreso Español de Limnología*. pp: 39-46
- ROMANENKO, V.I., M.P. EIRIS, V.M. KUDRYAVTSEV i M.A. PUBIENES, 1976. Microbiological processes in meromictic lake Valle de San Juan, Cuba. *Mikrobiologiya*, **45**:539-546
- SANDELL, E.B. 1959. "Iron". In: Colorimetric determination of traces of metals. 3rd. edition. Clarke, Elving & Kolthoff eds. *Interscience Publishers, Inc. New York*. pp:522-553
- SANTANDER, R.G. 1968. *Técnicas de microscopía electrónica en Biología*. Aguilar.
- SHOKES, R.F., P.K. TRABANT, B.J. PRESLEY i D. F. REID. 1977. Anoxic, hypersaline basin in the northern Gulf of Mexico. *Science*, **196**:1443-1446
- SHOLKOVITZ, E.R. 1985. Redox-related geochemistry in lakes: Alkali metals, alkaline-earth elements and <sup>137</sup>Cs. In: *Chemical processes in lakes*. Ed. W. Stumm. John Wiley and Sons. New York.
- SINGER, P.C. i W. STUMM, 1970. Solubility of ferrous iron in carbonate bearing waters. *J. Am. Waterworks Assoc.* **62**:198-202
- SKEI, J.M., 1983. Permanently anoxic marine basins - Exchange of substances across boundaries. *Env. Biogeochem.* Hallberg, R. (ed) **35**:419-429
- SMITH, J.H. i A. BENITEZ, 1955. Chlorophylls. Analysis in plant materials. A: Modern methods of plant analysis. *VH Springer-Verlag. Heidelberg*.
- SORENSEN, J. 1982. Reduction of ferric iron in anaerobic marine sediments and interaction with reduction of nitrate and sulphate. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**: 319-324
- SORENSEN, J. i B.B. JORGENSEN, 1987. Early diagenesis in sediments from Danish coastal waters: Microbial activity and Mn-Fe-S geochemistry. *Geochim et Cosmochim. Acta*, **51**:1583-1590
- SOROKIN, J. i N. DONATO, 1975. On the carbon and sulphur metabolism in the meromictic Lake faro (Sicily). *Hydrobiologia* **47**:241-252

- STEENBERGEN, C.L.M.; KORTHALS, H.J. i M. VAN NES, 1987. Ecological observations on phototrophic sulfur bacteria and the role of these bacteria in the sulfur cycle of monomictic lake Vechten (The Netherlands). *Acta Academiae Aboensis* **47**:97-115
- STUMM, W. i J.J. MORGAN. 1970. *Aquatic chemistry*. Willey Interscience. New York.
- TAKAHASHI, M. i S. ICHIMURA, 1968. Vertical distribution and organic matter production of phototrophic sulfur bacteria in Japanese lakes. *Limnol. Oceanogr.* **13**:644-653.
- TAKAHASHI, M. i S. ICHIMURA, 1970. Photosynthetic properties and growth of photosynthetic sulfur bacteria in lakes. *Limnol. Oceanogr.* **15**:924-944.
- TAKAHASHI, M., K. SHIOKAWA i S. ICHIMURA, 1972. Photosynthetic characteristic of a purple sulfur bacterium grown under different light intensities. *Can. J. Microbiol.* **18**:1825-1828
- TIMMS, B.V., 1971. A meromictic lake in Australia. *Limnol. Oceanogr.* **17**:918-922
- TRÜPER, H.G. i S. GENOVESE, 1968. Characterization of photosynthetic sulfur bacteria causing red-water in lake Faro (Messina, Sicily). *Limnol. Oceanogr.* **13**:225-232.
- TUOVINEN, O.H. i E.L. NURMIAHO, 1979. Microscopic examination of bacteria in Fe(III)-Oxide deposited from ground water. *Microb. Ecol.* **5**:57-66
- VAN GEMERDEN, 1967. *On the bacterial sulfur cycle on inland waters*. Tesis. Universitat de Leiden (Holanda)
- VAN GEMERDEN, H. 1980. Survival of *Chromatium vinosum* at low light intensities. *Arch. Microbiol.* **125**:115-121
- VAN GEMERDEN, H. 1984. The sulfide affinity of phototrophic bacteria in relation to the location of elemental sulfur. *Arch. Microbiol.* **139**:289-294
- VAN GEMERDEN, H. i H.H. BEEFTINK, 1978. Specific rates of substrate oxidation and product formation in autotrophically growing *Chromatium vinosum* cultures. *Arch. Microbiol.* **119**:135-143

- VAN GEMERDEN, H. i H.H. BEEFTINK, 1981. Coexistence of *Chlorobium* and *Chromatium* in a sulfide-limited continuous culture. *Arch. Microbiol.* **129**:32-34
- VAN GEMERDEN, H. i R. DE WIT, 1986. Strategies of phototrophic bacteria in sulphide-containing environments. **In**: Herbert, R.A. and Codd, G.A. (eds.). *Microbes in extreme environments*. pp:111-127. Academic Press. London
- VAN NIEL, C.B. 1971. Techniques for the enrichment isolation and maintenance of the photosynthetic bacteria. **In**: A. San Pietro (ed). *Methods in enzymology*. v23 A. Academic Press, New York
- VERDOUW, H. i DEKKERS, E.H.J., 1980. Iron and Manganese in lake Vechten (The Netherlands); dynamics and role in the cycle of reducing power. *Arch. Hydrobiol.* **89**(4):509-532
- VIDAL, L.M. 1908. Investigaciones de hidrologia subterranea en la comarca de Bañolas (Gerona). *Mem. Real Acad. Cienc. Art. Barcelona* 339-355
- VOGEL, A. I. 1978. *Textbook of quantitative inorganic analysis*. 4.edició. Basset, J.; Denney, R.C.; Jeffery, G.H. and Mendham, J. eds. Longman. pp:741-743
- VOLLENWEIDER, R.A. (ed.) 1974. *Primary production in aquatic environments*. Blackwells, Oxford
- WETZEL, R.G. 1966. Variations of productivity of Goose and hypertrophic Sylvan lakes. Indiana. *Invest. Indiana Lakes Streams*, **7**:147-184
- WETZEL, R.G. 1975. *Limnology*. W.B. Saunders Co.
- YENTSCH, C. 1967. The measurement of chloroplastic pigments, thirty years of progress?. **In**: H.L. Golterman & R.S. Clymo (eds), *Chemical environment in the aquatic habitat*. N.V Noord-Hollandsche Uitgevers Maatschappij. Amsterdam.



A large, vertical, grey rectangular area with a fine, dotted texture, occupying the left and center portions of the page. It appears to be a redaction or a placeholder for content.

***Annexes***





## **Annexe 1:**

Programa "CALPIG" per al càlcul de les concentracions de pigments (clorofil·les i bacteriocl·orofil·les) a partir d'extractes acetònics o etanòlics.

El programa llistat a continuació utilitza l'absorvència a les següents longituds d'ona d'un extracte acetònic obtingut segons el procediment descrit anteriorment. Els resultats surten tabulats en codi ASCII, i poden ser incorporats per fulls de càlcul tipus LOTUS, utilitzats en qualsevol ordinador personal IBM compatible.

```
10 CLS
20 LOCATE 1,1,0
30 SCREEN 1
40 COLOR 2,1
50 PRINT TAB(35), "*****"
60 PRINT TAB(40), "P I G M E N T"
70 PRINT TAB(35), "*****"
80 REM SCREEN 2
90 COLOR 2,4
100 FOR I=1 TO 250 STEP 20
110 CIRCLE (200,100),I
120 NEXT I
130 LOCATE 20,30:PRINT"Copyright: J.G.G."
140 LOCATE 21,30:PRINT"INSTITUT D'ECOLOGIA AQUATICA"
150 V$=INPUT$(1)
160 CLS
170 SCREEN 2
180 DRAW "BH100BL200R600D150L600U150"
190 LOCATE 10,15:PRINT "** Aquest programa calcula les concentracions de pigments"
200 LOCATE 11,15:PRINT "en extractes acetònics o etanòlics en micrograms per litre."
210 PRINT
220 LOCATE 13,15:PRINT "(Prem qualsevol tecla per continuar.)"
230 V$=INPUT$(1)
250 OPEN "PIGMENT.DAT" FOR APPEND AS #1
260 OPEN "PIGMENT.RES" FOR APPEND AS #2
265 DIM FO$(20),VF(20),VE(20),CB(20),IR(20),OK(20),RA1(20),RA2(20)
266 DIMBE(20),BD(20),BC(20),BA(20),XX(20),ZZ(20)
267 DIMCB1(20),IR1(20),OK1(20),CA(20),BCA1(20),BCD1(20),BCE1(20),
BCC1(20)
```





```

1000 NEXT I
1010 CLS
1020 IF TR$="A" THEN U$="ACETONA":IF TR$="E" THEN U$="ETANOL"
1090 PRINT#1,DT$;" / ";LL$;" *EXTRACTE ";U$
1100 PRINT#1,"Fond  A(436) A(468) A(485) A(630) A(645) A(648) A(654) A(665) A(775)
A(830)"
1110
PRINT#1,"_____
_____
"
1120 FOR J=1 TO S
1130 PRINT#1,USING"###.##";VAL(FO$(J));
1140 PRINT#1,USING"      ###      ###      ###      ###      ###
";CB(J);IR(J);OK(J);RA1(J);RA2(J);
1150 PRINT#1,USING" ###.## #.### #.### #.### #.###";BE(J);BD(J);BC(J);BA(J);XX(J)
1160 NEXT J
1170
PRINT#1,"_____
_____
"
1190 PRINT#2,"Fond  CLORB  IRNTE  OKENA  CLORa  BCL-A  BCL-D  BCL-E  BCL-C"
1200PRINT#2,"_____
_____
"
1205 FOR K=1 TO S
1210 PRINT#2,USING"##.##      ###.###      ###.###      ###.###
";VAL(FO$(K));CB1(K);IR1(K);OK1(K);
1220 PRINT#2,USING"###.###      ###.###      ###.###      ###.###
###.###";CA(K);BCA1(K);BCD1(K);BCE1(K);BCC1(K)
1230 NEXT K
1240
PRINT#2"_____
_____
"
1241 DRAW "BH100BL200R600D150L600U150"
1242 LOCATE 11,15:PRINT "** Vols continuar amb el programa ? "
1243 LOCATE 13,15:PRINT "      (S/N)"
1244 CP$=INKEY$:IF LEN(CP$)=0 THEN GOTO 1244
1245 IF CP$="S" OR CP$="s" THEN GOTO 280 :IF CP$<>"S" THEN BEEP:BEEP:GOTO 1244
1246 IF CP$<>"N" THEN BEEP:BEEP:GOTO 1244
1250 CLOSE #2,#1
1260 SYSTEM
1270 END

```

## **Annexe 2:**

Programa "MODELFE". Estimació de la concentració màxima de  $\text{Fe}^{2+}$  al monimolimnion de C-IV a partir de la biomassa algal prèviament acumulada.

## MODELFE

Model funcionament del cicle del ferro a C-IV

```
10 KEY OFF
20 SCREEN 2:CLS
30 REM ***** EIXOS DE COORDENADES *****
40 INPUT "INTEGRACIO CLOR 'A' (mg m-2): ";A:CLS
50 LINE(10,0)-(10,172)
60 LINE(15,172)-(700,172)
70 LINE(15,0)-(700,0)
80 LINE(610,0)-(610,172)
90 FOR M=2 TO 80 STEP 5
100 LOCATE 22,M:PRINT CHR$(124)
110 LOCATE 23,M-1:PRINT M-2
120 NEXT M
130 FOR W=1 TO 20 STEP 3
140 LOCATE W,1:PRINT (22-W)*4
150 LOCATE W,75:PRINT (22-W)*15
160 NEXT W
170 LOCATE 21,60:PRINT "Temps (dies)"
180 LOCATE 5,5:PRINT "PIG INT= ";A; "mg/m2"
190 REM ***** ACUMULACIO DE FERRO *****
200 FAC=(70*A)/(60+A)
210 FOR I=0 TO 400 STEP .5
220 F1=.77*I
230 IF F1>=FAC THEN GOTO 280
240 PSET(2*I+10,172-F1*2)
250 NEXT I
260 REM ***** DESAPARICIO DE FERRO *****
270 X=0
280 FOR J=0 TO 400 STEP .5
290 F2=FAC-(.5*J)
300 IF F2>10 THEN X=JJ
310 IF F2<=0 THEN GOTO 350
320 JJ=I+J
330 PSET(2*JJ+10,172-F2*2)
340 NEXT J
350 REM ***** ACUMULACIO DE SULFHIDRIC *****
360 REM Pendent calculada "a ull" assumint valor de b=0
```



```
370 SAC=5.73*A
380 FOR K=X TO 400
390 S1=2.5*(K-X)
400 IF S1>=SAC THEN S2=S1:GOTO 430
410 PSET(2*K+10,172-S1*.535)
420 NEXT K
430 FOR T=K TO 1000
440 PSET(2*T+10,172-S2*.535)
450 NEXT T
460 LOCATE 7,5:PRINT "FE AC: ";FAC;" uM"
470 LOCATE 7,25:PRINT "t= ";I;" dies"
480 LOCATE 8,5:PRINT "H2S AC: ";SAC;" uM"
490 LOCATE 8,25:PRINT "t= ";K;" dies"
500 V$=INPUT$(1)
510 END
520 SYSTEM
```

### **Annexe 3:**

Fitxers de comandes per al programa BMDP-PAR

1. Càlcul paràmetres adsorció  $\text{Fe}^{2+}$  a Chlorobium
2. Càlcul paràmetres cinètica d'acumulació de  $\text{Fe}^{2+}$  a C-IV

/PROBLEM TITLE='MODEL APARICIO DEL FERRO A C-IV'.

/INPUT VARIABLES=2.  
FORMAT='(F6.2,F3)'.  
FILE='DINAMICAFE.DAT'.

/VARIABLE NAMES=FERRO,TEMPS.

/REGRESS DEPENDENT=FERRO.  
PARAMETERS=1.  
CONV=0.00001.  
TOL=0.0001.  
TITLE='DINAMICA FERRO A C-IV'.

/PARAMETER INITIAL=0.  
MINIMUM=-1000.  
MAXIMUM=1000.  
NAME=K.

/FUN  $F = 152 + (1.26 * TEMPS) - ((K / 0.018) * EXP(0.018 * TEMPS + 1))$

/END

/PROBLEM TITLE='ADSORCIO DE FE2+ PER CHLOROBIIUM'.

/INPUT VARIABLES=2.  
FORMAT='(F4,F6.2)'.  
FILE='ADSORFE.DAT'.

/VARIABLE NAMES=FERRO, FEBACT.

/REGRESS DEPENDENT=FEBACT.  
PARAMETERS=3.  
CONV=0.00001.  
TOL=0.0001.  
TITLE='FEBACT vs. CONC. FE'.

/PARAMETER INITIAL=100,50,0.1.  
MINIMUM=50,0,0.  
MAXIMUM=130,100,50.  
NAME=YMAX,KS,Y0.

/FUN  $F = (YMAX * FERRO / (KS + FERRO)) + Y0$ .

/END

**Annexe 4:**

Dades numèriques dels mostreig efectuats a C-III, C-IV i C-VI durant 1988 i 1989.















881018 16.00 99.9 9999 9999 999.9 9.9999999 76.8 6.83 99.9 99.99 999.99 25.70 42.19 0.00 0.00 0.00 1.81 19.40  
1 881018 17.00 99.9 9999 9999 999.9 9.9999999 68.1 6.92 99.9 99.99 999.99 25.00 117.86 0.00 0.00 2.27 19.95  
2 881018 18.00 99.9 9999 9999 999.9 9.9999999 36.2 9.94 99.9 99.99 999.99 24.90 33.63 0.00 0.00 1.81 17.99  
3 881018 19.00 99.9 9999 9999 999.9 9.9999999 338.5 6.90 99.9 99.99 999.99 98.30 564.15 0.00 0.00 1.36 6.36  
4 881018 20.00 99.9 9999 9999 999.9 9.9999999 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 999.99 293.98 0.00 0.00 99.99 99.99  
5 881211 0.00 9.2 768 1006.700 1.0000411 354.6 7.40 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
6 881211 1.00 9.0 768 1012.270 1.0000429 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
7 881211 2.00 9.0 768 1012.270 1.0000429 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
8 881211 3.00 8.9 768 1015.070 1.0000439 354.6 7.41 99.9 0.00 92.27 0.00 0.00 4.02 0.00 0.00  
9 881211 4.00 8.9 768 1015.070 1.0000439 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
10 881211 5.00 8.9 768 1015.070 1.0000439 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
11 881211 6.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 5.04 0.00 0.00  
12 881211 7.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 349.1 7.51 99.9 0.00 8.70 0.00 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
13 881211 8.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
14 881211 9.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
15 881211 10.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
16 881211 11.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 349.1 7.58 99.9 0.00 29.27 0.00 0.00 5.01 0.00 0.00  
17 881211 12.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
18 881211 13.00 8.7 768 1020.720 1.0000456 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
19 881211 14.00 8.7 768 1020.720 1.0000456 999.9 9.99 99.9 0.00 999.99 0.00 0.00 99.99 0.00 0.00  
20 881211 15.00 8.7 768 1020.720 1.0000456 349.7 7.63 99.9 0.00 4.94 0.00 0.00 5.04 0.00 0.00  
21 881211 16.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 0.00 0.00 999.99 99.99 0.00 0.00  
22 881211 17.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 0.00 0.00 999.99 99.99 0.00 0.00  
23 881211 18.00 8.8 768 1017.890 1.0000448 999.9 9.99 99.9 0.00 0.00 0.00 999.99 99.99 0.00 0.00  
24 881211 19.00 9.1 800 1051.540 1.0000447 352.7 7.57 99.9 0.00 0.00 0.00 999.99 99.99 2.79 0.00 1.16  
25 881211 20.00 10.6 1120 1413.220 1.0000550 -327.0 7.10 99.9 0.00 999.99 121.80 246.65 0.00 99.99 0.00 99.99  
26 881211 21.00 10.8 1120 1405.660 1.0000525 -229.0 9.99 99.9 0.00 0.00 999.99 999.99 999.99 1.93 0.00 99.99  
27 881211 22.00 10.8 1120 1405.660 1.0000525 -329.0 7.06 99.9 99.99 999.99 112.90 328.70 0.00 0.00 1.04  
28 881211 23.00 10.8 1120 1405.660 1.0000525 -344.2 7.05 99.9 99.99 999.99 121.20 350.64 0.00 0.00 1.53  
29 881211 24.00 10.8 1120 1405.660 1.0000525 -349.6 7.05 99.9 99.99 999.99 121.20 360.85 0.00 0.00 1.28  
30 881211 25.00 10.8 1120 1405.660 1.0000525 999.9 9.99 99.9 999.99 999.99 999.99 999.99 0.00 0.00 99.99  
31 881211 26.00 16.5 750 814.240 0.999230 999.9 9.99 99.9 999.99 999.99 999.99 999.99 0.00 0.00 99.99  
32 881211 27.00 16.2 800 633.750 0.999314 999.9 9.99 99.9 999.99 999.99 999.99 999.99 0.00 0.00 99.99

C. G. U. B. B.











880915 12.50 12.5 1696.2035.250 1.000742 0.0 7.12 0.0 0.00 0.00 0.00 70.50 26.10 11.78 00.00 5.14 50.67  
1 880915 13.00 12.6 1760 2106.580 1.000775 -142.6 7.06 0.0 0.00 0.00 77.10 62.50 2.19 00.00 3.63 37.45  
2 880915 14.00 12.6 1760 2106.580 1.000775 -149.8 7.04 0.0 0.00 0.00 71.40 68.50 1.09 00.00 3.93 37.33  
3 880915 15.00 12.6 1760 2106.580 1.000775 -185.4 7.03 0.0 0.00 0.00 70.50 243.50 1.82 00.00 3.02 30.11  
4 880915 16.00 12.6 1760 2106.580 1.000775 -209.9 7.03 0.0 0.00 0.00 73.40 71.40 1.27 00.00 2.42 29.38  
5 880915 17.00 12.6 1760 2106.580 1.000775 999.9 6.85 0.0 0.00 0.00 73.70 64.5 999.99 00.00 3.63 31.58  
6 880915 18.00 14.5 9999.9 999.99 999.99 268.5 7.66 10.2 0.00 3.66 0.00 0.00 0.00 2.13 00.00 00.00  
7 881006 0.00 17.5 1160 1229.560 0.999471 999.9 9.99 10.0 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
8 881006 1.00 17.5 1160 1229.560 0.999471 999.9 9.99 10.0 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
9 881006 2.00 17.5 1160 1229.560 0.999471 999.9 9.99 10.0 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
10 881006 3.00 17.5 1160 1229.560 0.999471 274.3 7.70 9.9 0.00 3.86 0.00 0.00 2.37 00.00 00.00  
11 881006 4.00 17.5 1160 1229.560 0.999471 999.9 9.99 9.9 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
12 881006 5.00 17.5 1160 1229.560 0.999471 999.9 9.99 9.9 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
13 881006 6.00 17.5 1200 1271.950 0.999499 278.2 7.72 9.9 0.00 3.88 0.00 0.00 2.59 00.00 00.00  
14 881006 7.00 17.4 1200 1271.950 0.999518 999.9 9.99 9.0 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
15 881006 8.00 17.1 1160 1241.330 0.999550 999.9 9.99 7.9 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
16 881006 9.00 15.9 1136 1251.400 0.999759 280.9 7.13 2.7 0.00 4.08 0.00 0.00 0.00 5.13 00.00 00.00  
17 881006 10.00 14.9 1120 1264.540 0.999923 999.9 9.99 0.5 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 00.00 00.00 00.00  
18 881006 11.00 13.6 1200 1399.890 1.000195 999.9 9.99 0.0 0.00 999.99 0.00 0.00 0.00 00.00 00.00 00.00  
19 881006 12.00 12.9 1400 1662.750 1.000454 10.2 6.98 0.0 0.00 4.10 56.70 11.00 5.14 00.00 9.83 33.23  
20 881006 12.50 12.8 1440 1714.670 1.000500 -282.1 6.94 0.0 0.00 0.00 111.60 4196.00 8.46 00.00 4.23 58.02  
21 881006 13.00 12.8 1520 1809.930 1.000561 -351.7 6.93 0.0 0.00 0.00 106.10 7001.00 0.00 00.00 2.72 30.35  
22 881006 14.00 12.8 1520 1809.930 1.000561 -345.9 6.93 0.0 0.00 0.00 101.30 6559.00 0.00 00.00 2.42 27.05  
23 881006 15.00 12.7 1520 1814.610 1.000576 -340.4 6.92 0.0 0.00 0.00 109.10 6936.00 0.00 00.00 2.42 28.64  
24 881006 16.00 12.8 1520 1809.930 1.000561 -343.1 6.92 0.0 0.00 999.99 100.40 7004.00 0.00 00.00 2.42 27.90  
25 881006 17.00 12.8 1520 1809.930 1.000561 -343.8 6.93 0.0 0.00 999.99 106.10 7586.00 0.00 00.00 00.00 13.90  
26 881006 18.00 12.8 1520 1809.930 1.000561 999.9 9.99 99.9 999.99 999.99 999.99 999.99 999.99 999.99 00.00 00.00  
27 881006 18.50 9.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 999.99 999.99 999.99 999.99 00.00 00.00  
28 881211 0.00 8.8 640 848.240 1.000339 341.7 7.66 99.9 0.03 15.92 0.00 0.00 0.00 5.98 00.00 00.00  
29 881211 1.00 8.8 640 848.240 1.000339 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
30 881211 2.00 8.8 680 901.260 1.000373 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
31 881211 3.00 8.7 680 903.760 1.000382 334.3 7.72 99.9 0.05 16.87 0.00 0.00 6.80 00.00 00.00  
32 881211 4.00 8.7 680 903.760 1.000382 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
33 881211 5.00 8.7 720 956.920 1.000416 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
34 881211 6.00 8.7 720 956.920 1.000416 333.3 7.76 99.9 0.01 17.66 0.00 0.00 6.41 00.00 00.00  
35 881211 7.00 8.7 720 956.920 1.000416 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
36 881211 8.00 8.7 736 978.190 1.000429 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
37 881211 9.00 8.7 768 1020.720 1.000456 333.2 7.78 99.9 0.03 18.18 0.00 0.00 6.42 00.00 00.00  
38 881211 10.00 8.7 768 1020.720 1.000456 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
39 881211 11.00 8.7 768 1020.720 1.000456 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
40 881211 12.00 8.7 768 1020.720 1.000456 331.2 7.79 99.9 99.99 99.99 0.00 0.00 5.28 00.00 00.00  
41 881211 13.00 8.7 768 1020.720 1.000456 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 0.00 99.99 00.00 00.00  
42 881211 14.00 8.7 768 1020.720 1.000456 325.8 7.7 99.9 0.00 19.26 0.00 0.00 5.70 00.00 00.00  
43 881211 15.00 9.4 800 1042.890 1.000418 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 8.09 4.93 00.00 00.00  
44 881211 16.00 11.9 1200 1462.770 1.000445 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 99.99 99.99 00.00 00.00  
45 881211 17.00 11.9 1200 1462.770 1.000445 293.9 7.05 99.9 0.00 0.00 17.15 21.02 15.66 2.88 00.00 00.00  
46 881211 18.00 14.3 1200 1375.330 1.000082 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 99.99 99.99 00.00 00.00  
47 881211 19.00 14.3 1200 1375.330 1.000082 999.9 9.99 99.9 99.99 999.99 0.00 99.99 99.99 00.00 00.00

48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
E.E.C.C.B.  
60

DATA**	FONDA	TEMP	COND	CMD/CORR	DENSITAT	REDOXA	BHKA	OXIG	NO2**	NO3***	NH4***	H2S***	FERRON	CL"A"	BC"A"	BC"E"
1	B71224	0.00	12.2	1600	1935.103	1.0000713	131.4	9.99	9.8	13.00	58.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	B71224	1.00	12.1	1560	1891.662	1.000681	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	B71224	2.00	12.0	1520	1847.989	1.000681	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	B71224	3.00	12.0	1520	1847.989	1.000681	131.6	9.99	9.8	0.00	60.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	B71224	4.00	12.0	1480	1799.358	1.000650	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6	B71224	5.00	11.9	1480	1804.083	1.000664	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
7	B71224	6.00	11.9	1480	1804.083	1.000664	131.0	9.99	9.8	3.00	73.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	B71224	7.00	11.9	1440	1755.324	1.000633	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
9	B71224	8.00	11.8	1440	1759.942	1.000647	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	B71224	9.00	11.8	1440	1759.942	1.000647	130.2	9.99	9.6	1.50	72.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
11	B71224	10.00	11.8	1440	1755.324	1.000633	999.9	9.99	9.6	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	B71224	11.00	11.8	1440	1759.942	1.000647	999.9	9.99	9.6	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
13	B71224	12.00	11.8	1440	1759.942	1.000647	129.4	9.99	9.2	2.50	79.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	B71224	13.00	11.8	1440	1759.942	1.000647	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	B71224	14.00	11.8	1440	1759.942	1.000647	999.9	9.99	9.8	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	B71224	15.00	11.9	1440	1755.324	1.000633	127.3	9.99	8.2	11.00	75.00	7.10	0.00	0.00	0.00	0.00
17	B71224	16.00	11.9	1280	1560.288	1.000508	126.8	9.99	1	5.00	71.00	9.30	0.00	0.00	0.00	0.00
18	B80122	0.00	12.1	672	814.870	1.000	224.7	7.72	9.5	0.65	66.20	0.00	0.00	3.49	0.67	0.00
19	B80122	1.00	12.0	656	797.553	1.000	999.9	9.99	10.0	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
20	B80122	2.00	11.9	656	799.648	1.000	999.9	9.99	10.5	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
21	B80122	3.00	11.8	656	801.751	1.000	224.3	7.70	11.0	0.85	58.30	0.00	0.00	2.93	0.92	0.00
22	B80122	4.00	11.8	656	801.751	1.000	999.9	9.99	11.0	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
23	B80122	5.00	11.8	656	801.751	1.000	999.9	9.99	11.0	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
24	B80122	6.00	11.8	656	801.751	1.000	223.1	7.71	10.0	0.59	53.90	0.00	0.00	2.75	0.82	0.00
25	B80122	7.00	11.8	656	801.751	1.000	999.9	9.99	10.5	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
26	B80122	8.00	11.8	664	811.529	1.000	999.9	9.99	10.5	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
27	B80122	9.00	11.8	672	821.306	1.000	223.1	7.76	10.5	0.59	51.40	0.00	0.00	2.75	0.64	0.00
28	B80122	10.00	11.9	680	828.903	1.000	999.9	9.99	10.0	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
29	B80122	11.00	11.9	688	838.655	1.000	999.9	9.99	9.0	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
30	B80122	12.00	11.9	688	838.655	1.000	223.2	7.70	9.0	0.50	46.90	0.00	0.00	2.38	0.46	0.00
31	B80122	13.00	11.9	688	838.655	1.000	999.9	9.99	8.5	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
32	B80122	14.00	11.9	688	838.655	1.000	999.9	9.99	8.5	99.99	999.99	0.00	0.00	999.99	99.99	0.00
33	B80122	15.00	12.0	688	836.458	1.000	228.8	7.63	8.5	0.56	43.00	0.00	0.00	3.67	0.41	0.00
34	B80216	0.00	10.2	800	1020.392	1.000336	127.9	7.91	10.4	0.60	123.00	0.00	0.00	0.00	1.67	0.00
35	B80216	1.00	10.0	800	1025.941	1.000357	999.9	9.99	11.1	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
36	B80216	2.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	11.2	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
37	B80216	3.00	9.8	800	1031.540	1.000378	125.0	7.91	11.3	0.50	127.00	0.00	0.00	0.00	1.49	0.00
38	B80216	4.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	11.7	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
39	B80216	5.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	12.1	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
40	B80216	6.00	9.8	800	1031.540	1.000378	122.7	7.91	12.4	0.50	127.00	0.00	0.00	0.00	1.41	0.00
41	B80216	7.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	12.5	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
42	B80216	8.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	12.6	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
43	B80216	9.00	9.8	800	1031.540	1.000378	123.3	7.90	12.8	0.50	131.00	0.00	0.00	0.00	1.09	0.00
44	B80216	10.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	12.5	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
45	B80216	11.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	12.4	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
46	B80216	12.00	9.8	800	1031.540	1.000378	122.9	7.88	12.0	0.50	134.00	0.00	0.00	0.00	0.91	0.00
47	B80216	13.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	11.4	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
48	B80216	14.00	9.8	800	1031.540	1.000378	124.2	7.80	11.0	0.90	135.00	0.00	0.00	0.00	1.03	0.00
49	B80216	15.00	9.8	800	1031.540	1.000378	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
50	B80308	0.00	10.9	800	1001.358	1.000257	40.2	7.93	9.9	0.05	120.00	0.00	0.00	0.00	2.06	0.00
51	B80308	1.00	10.7	480	604.041	1.000022	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
52	B80308	2.00	10.5	480	607.297	1.000043	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
53	B80308	3.00	10.3	480	610.582	1.000064	40.2	7.93	9.9	0.10	99.00	0.00	0.00	0.00	2.16	0.00
54	B80308	4.00	10.2	450	573.971	1.000050	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
55	B80308	5.00	10.2	450	573.971	1.000050	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
56	B80308	6.00	10.2	450	573.971	1.000050	48.5	7.93	9.9	0.00	93.00	0.00	0.00	0.00	1.99	0.00
57	B80308	7.00	10.1	450	575.528	1.000060	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
58	B80308	8.00	10.1	450	575.528	1.000060	999.9	9.99	9.9	99.99	999.99	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00
59	B80308	9.00	10.1	450	575.528	1.000060	19.2	7.95	9.9	0.05	93.00	0.00	0.00	0.00	1.81	0.00



1	BB0726	3.00	21.9	776	743.373	0.998269	402.0	7.57	10.2	0.00	122.00	0.00	0.00	0.45	0.00	0.00	
2	BB0726	4.00	21.0	9999	9999.999	9.999999	999.9	9.99	10.0	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
3	BB0726	5.00	16.2	9999	9999.999	9.999999	999.9	9.99	9.6	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
4	BB0726	6.00	14.6	720	819.020	0.999682	264.2	7.48	9.8	0.00	124.00	0.00	0.00	0.43	0.00	0.00	
5	BB0726	7.00	13.5	9999	9999.999	9.999999	999.9	9.99	10.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
6	BB0726	8.00	11.5	9999	9999.999	9.999999	999.9	9.99	12.2	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
7	BB0726	9.00	10.0	728	933.606	1.000298	233.6	7.46	12.2	0.00	140.00	0.00	0.00	0.21	0.00	0.00	
8	BB0726	10.00	9.0	9999	9999.999	9.999999	999.9	9.99	11.6	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
9	BB0726	11.00	8.0	9999	9999.999	9.999999	999.9	9.99	5.2	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
10	BB0726	12.00	7.6	840	1151.392	1.000609	229.6	7.41	3.4	0.00	120.00	0.00	0.00	0.44	0.00	1.34	
11	BB0726	13.00	7.3	720	995.345	1.000523	220.9	7.40	1.5	0.00	100.00	0.00	0.00	0.26	1.21	2.69	
12	BB0726	14.00	7.1	704	978.788	1.000523	167.4	7.36	1.0	0.00	0.00	57.00	122.61	0.00	0.43	1.59	
13	BB0823	0.00	22.0	1600	1529.305	0.998750	386.5	7.53	10.4	0.00	188.00	0.00	0.00	4.09	0.00	0.00	
14	BB0823	1.00	22.0	1600	1529.305	0.998750	386.5	7.53	10.4	0.00	188.00	0.00	0.00	4.09	0.00	0.00	
15	BB0823	2.00	22.0	1600	1529.305	0.998750	386.5	7.53	10.4	0.00	188.00	0.00	0.00	4.09	0.00	0.00	
16	BB0823	3.00	21.9	1600	1532.728	0.998775	373.8	7.57	10.4	0.00	181.00	0.00	0.00	2.73	0.00	0.00	
17	BB0823	4.00	21.9	1600	1532.728	0.998775	373.8	7.57	10.4	0.00	181.00	0.00	0.00	2.73	0.00	0.00	
18	BB0823	5.00	21.3	1600	1553.502	0.998921	399.9	9.99	10.4	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
19	BB0823	6.00	18.8	1584	1628.451	0.999484	399.9	9.99	11.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
20	BB0823	7.00	17.2	1472	1571.488	0.999744	384.6	7.48	13.4	0.00	183.00	0.00	0.00	5.04	0.00	0.00	
21	BB0823	8.00	14.5	1424	1623.896	1.000212	399.9	9.99	12.4	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
22	BB0823	9.00	12.5	1360	1632.040	1.000484	399.9	9.99	12.2	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
23	BB0823	10.00	10.9	1280	1602.173	1.000641	399.9	9.99	8.0	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
24	BB0823	11.00	10.1	1280	1637.057	1.000739	399.9	9.99	5.0	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
25	BB0823	12.00	9.6	1264	1638.759	1.000783	323.2	7.33	0.8	0.00	180.00	0.00	0.00	6.28	2.72	0.00	
26	BB0823	13.00	8.8	1264	1675.276	1.000868	272.5	7.29	0.5	0.00	175.00	59.17	150.05	0.00	2.76	2.72	0.00
27	BB0823	14.00	8.6	1232	1641.146	1.000861	-244.7	7.26	0.0	0.00	999.99	108.29	287.44	0.00	2.90	2.87	0.00
28	BB0823	15.00	8.4	1232	1651.146	1.000860	-320.8	7.22	0.0	0.00	999.99	108.29	376.40	0.00	0.00	99.99	0.00
29	BB0823	16.00	8.3	1152	1548.250	1.000821	999.9	9.99	0.0	0.00	999.99	999.99	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00
30	BB0915	0.00	19.9	1360	1363.113	0.999095	359.3	7.63	9.5	0.00	23.97	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
31	BB0915	1.00	19.8	1360	1366.241	0.999118	999.9	9.99	9.2	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
32	BB0915	2.00	19.7	1360	1369.380	0.999140	999.9	9.99	9.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
33	BB0915	3.00	19.7	1360	1369.380	0.999140	999.9	9.99	9.5	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
34	BB0915	4.00	19.7	1360	1369.380	0.999140	999.9	9.99	10.0	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
35	BB0915	5.00	19.4	1360	1369.380	0.999140	324.7	7.46	9.8	0.00	46.15	0.00	0.00	4.43	0.00	0.00	
36	BB0915	6.00	18.4	1328	1378.072	0.999400	999.9	9.99	10.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
37	BB0915	7.00	18.4	1328	1378.072	0.999400	999.9	9.99	10.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
38	BB0915	8.00	16.2	1264	1382.275	0.999793	330.0	7.53	13.0	0.00	41.90	0.00	0.00	5.88	0.00	0.00	
39	BB0915	9.00	13.1	1168	1380.086	1.000248	320.0	7.61	12.0	0.65	69.62	0.00	0.00	6.06	0.00	0.00	
40	BB0915	10.00	11.2	1120	1390.734	1.000475	999.9	9.99	7.4	99.99	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
41	BB0915	11.00	10.3	1104	1404.338	1.000572	999.9	9.99	3.7	99.99	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
42	BB0915	12.00	9.5	1056	1372.844	1.000621	267.0	7.52	1.5	0.00	53.74	0.00	0.00	4.26	0.00	0.00	
43	BB0915	13.00	9.2	1040	1363.234	1.000639	138.4	7.35	1.2	0.00	999.99	45.44	25.90	0.00	7.39	6.20	0.00
44	BB0915	14.00	8.7	1040	1382.224	1.000688	-270.3	7.24	1.0	0.00	999.99	81.06	98.70	0.00	0.00	3.33	0.00
45	BB0915	15.00	8.3	1040	1397.726	1.000725	-298.4	7.19	0.0	0.00	0.00	94.96	248.50	0.00	0.00	1.21	0.00
46	BB0915	16.00	8.3	1008	1354.719	1.000697	-325.6	7.19	0.0	0.00	0.00	103.95	295.30	0.00	0.00	4.23	0.00
47	BB0915	17.00	8.3	1008	1354.719	1.000697	-325.6	7.19	0.0	0.00	0.00	999.99	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00
48	BB1006	0.00	17.7	1136	1198.419	0.999415	279.9	7.66	10.2	0.00	163.62	0.00	0.00	2.13	0.00	0.00	
49	BB1006	1.00	17.6	1136	1201.262	0.999435	999.9	9.99	10.1	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
50	BB1006	2.00	17.5	1120	1187.157	0.999444	999.9	9.99	10.1	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
51	BB1006	3.00	17.4	1120	1189.982	0.999464	280.0	7.73	10.2	0.00	127.79	0.00	0.00	2.18	0.00	0.00	
52	BB1006	4.00	17.4	1120	1189.982	0.999464	280.0	7.73	10.2	0.00	127.79	0.00	0.00	2.18	0.00	0.00	
53	BB1006	5.00	17.4	1120	1189.982	0.999464	280.0	7.73	10.2	0.00	127.79	0.00	0.00	2.18	0.00	0.00	
54	BB1006	6.00	17.4	1120	1189.982	0.999464	280.0	7.73	10.2	0.00	127.79	0.00	0.00	2.18	0.00	0.00	
55	BB1006	7.00	17.2	1120	1195.667	0.999503	999.9	9.99	10.0	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
56	BB1006	8.00	14.5	1140	1213.003	0.999618	999.9	9.99	9.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
57	BB1006	9.00	14.5	1140	1213.003	0.999618	999.9	9.99	9.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
58	BB1006	10.00	11.9	960	1170.216	1.000258	999.9	9.99	5.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	
59	BB1006	10.00	11.9	960	1170.216	1.000258	999.9	9.99	5.8	0.00	999.99	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	

C. R. W. B.

1	BB1006	11.00	10.7	960	1208.083	1.000409	999.9	9.99	1.0	0.00	999.99	0.00	0.00	0.00	0.00	99.99	0.00	0.00	0.00	0.00
2	BB1006	12.00	9.9	944	1213.907	1.000486	259.0	7.36	0.7	0.80	107.11	0.00	0.00	0.00	2.80	0.61	0.00	0.00	0.00	0.00
3	BB1006	13.00	9.3	944	1233.996	1.000548	-169.4	7.31	0.5	0.00	999.99	58.61	25.00	0.00	0.00	4.69	6.43	6.43	6.43	6.43
4	BB1006	14.00	8.9	944	1247.693	1.000587	-321.0	7.26	0.0	0.00	999.99	103.69	87.00	0.00	0.00	3.93	8.57	8.57	8.57	8.57
5	BB1006	15.00	8.6	944	1258.128	1.000615	-335.4	7.23	0.0	0.00	999.99	139.83	113.00	0.00	0.00	4.23	6.00	6.00	6.00	6.00
6	BB1006	16.00	8.5	944	1261.638	1.000624	-355.7	7.22	0.0	0.00	999.99	141.78	157.00	0.00	0.00	6.35	5.88	5.88	5.88	5.88
7																				
8																				
9																				
10																				
11																				
12																				
13																				
14																				
15																				
16																				
17																				
18																				
19																				
20																				
21																				
22																				
23																				
24																				
25																				
26																				
27																				
28																				
29																				
30																				
31																				
32																				
33																				
34																				
35																				
36																				
37																				
38																				
39																				
40																				
41																				
42																				
43																				
44																				
45																				
46																				
47																				
48																				
49																				
50																				
51																				
52																				
53																				
54																				
55																				
56																				
57																				
58																				
59																				
60																				





890713	13.25	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	309.0	6.82	99.9	0.00	999.99	0.92	3.830	0.000	1.040	999.99	
1	890713	13.50	12.4	1700	2045.359	1.000761	295.0	6.78	99.9	0.00	999.99	8.62	11.470	0.000	2.999	999.99
2	890713	13.75	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	295.0	6.77	99.9	0.00	999.99	16.32	13.416	0.000	3.550	999.99
3	890713	14.00	13.0	1950	2310.012	1.000856	306.0	6.74	0.6	0.00	999.99	21.97	9.403	0.000	2.448	0.29
4	890713	14.25	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	293.0	6.73	0.0	0.00	999.99	25.95	7.166	0.000	1.775	999.99
5	890713	14.50	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	291.0	6.72	0.0	0.00	999.99	26.72	6.029	0.000	1.469	999.99
6	890713	15.00	13.1	2000	2363.161	1.000877	288.0	6.72	0.0	0.00	999.99	25.82	7.512	0.000	1.958	0.13
7	890713	16.00	13.1	2000	2363.161	1.000877	286.0	6.72	0.0	0.00	999.99	25.18	7.337	0.000	1.897	0.06
8	890713	17.00	13.1	2000	2363.161	1.000877	286.0	6.72	0.0	0.00	999.99	24.28	6.557	0.000	1.652	0.03
9	890720	0.00	-22.8	1350	1267.570	0.998400	-202.4	-7.34	10.2	0.00	-999.99	0.00	-1.418	0.000	0.000	100.00
10	890720	1.00	22.8	1350	1267.570	0.998400	999.9	9.99	11.4	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	73.39
11	890720	2.00	22.7	1350	1270.387	0.998425	999.9	9.99	11.4	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	64.52
12	890720	3.00	22.7	1350	1270.387	0.998425	301.4	7.56	11.8	0.00	-999.99	0.00	-1.435	0.000	0.000	53.23
13	890720	4.00	22.6	1350	1273.213	0.998450	999.9	9.99	11.8	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	45.16
14	890720	5.00	21.9	1350	1293.329	0.998622	999.9	9.99	11.4	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	38.23
15	890720	6.00	19.6	1300	1311.978	0.999124	-307.4	-7.41	11.4	0.00	-999.99	0.00	-1.589	0.000	0.000	28.23
16	890720	7.00	16.9	1200	1290.302	0.999617	999.9	9.99	11.0	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	20.16
17	890720	8.00	15.3	1175	1313.566	0.999894	999.9	9.99	8.5	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	15.32
18	890720	9.00	14.7	1150	1304.896	0.999979	-306.4	-6.90	7.1	0.00	-999.99	0.00	-2.177	0.000	0.000	10.48
19	890720	10.00	14.2	1150	1331.345	1.000062	999.9	9.99	6.2	0.00	999.99	0.00	999.999	0.000	0.000	5.08
20	890720	11.00	13.6	1200	1399.890	1.000195	304.4	7.01	6.6	0.00	999.99	0.00	3.144	0.000	0.000	2.74
21	890720	12.00	12.9	1275	1514.287	1.000359	304.9	7.00	4.2	0.00	-999.99	0.00	-3.847	0.000	0.000	1.28
22	890720	13.00	12.4	1500	1804.728	1.000607	303.7	6.96	1.0	0.58	999.99	7.59	4.282	0.000	1.102	0.64
23	890720	13.25	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	301.2	6.95	99.9	4.76	999.99	0.53	6.038	0.000	1.775	999.99
24	890720	13.50	12.4	1700	2045.359	1.000761	276.9	6.78	99.9	1.43	999.99	0.00	9.833	0.000	2.570	999.99
25	890720	13.75	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	275.0	6.88	99.9	1.37	999.99	7.59	10.080	0.000	2.693	999.99
26	890720	14.00	13.1	1950	2304.082	1.000840	264.2	6.88	0.7	0.10	999.99	21.33	7.865	0.000	2.142	0.32
27	890720	14.25	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	259.4	6.89	99.9	0.30	-999.99	24.67	7.104	0.000	2.142	0.00
28	890720	14.50	13.2	1975	2327.642	1.000842	254.6	6.90	99.9	0.60	999.99	21.07	7.601	0.000	1.897	0.00
29	890720	15.00	13.2	1975	2327.642	1.000842	251.7	6.91	0.6	0.84	999.99	23.00	6.672	0.000	1.958	0.00
30	890720	16.00	13.2	1975	2327.642	1.000842	249.5	6.91	0.0	0.86	-999.99	25.31	6.271	0.000	1.591	0.00
31	890720	17.00	13.2	1975	2327.642	1.000842	246.7	6.93	0.0	1.46	999.99	21.07	6.931	0.000	2.203	0.00
32	890720	18.00	14.0	1700	1963.167	1.000501	999.9	9.99	0.0	999.99	999.99	999.99	999.99	0.000	999.999	0.00
33	890727	0.00	-22.7	1375	1283.913	0.998440	-394.2	-7.68	9.3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.000	0.000	100.00
34	890727	1.00	22.6	1375	1286.791	0.998465	999.9	9.99	11.2	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	76.81
35	890727	2.00	22.6	1375	1286.791	0.998465	999.9	9.99	11.6	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	65.94
36	890727	3.00	22.6	1375	1286.791	0.998465	386.7	-7.58	11.8	0.00	0.00	0.00	-1.265	0.000	0.000	54.35
37	890727	4.00	22.5	1375	1289.677	0.998490	999.9	9.99	11.6	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	45.65
38	890727	5.00	22.5	1375	1289.677	0.998490	999.9	9.99	11.4	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	37.68
39	890727	6.00	20.3	1325	1315.955	0.998983	392.9	-7.24	12.2	0.00	0.00	0.00	1.670	0.000	0.000	28.99
40	890727	7.00	17.3	1250	1331.271	0.999573	999.9	9.99	12.0	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	22.46
41	890727	8.00	15.6	1200	1331.648	0.999858	999.9	9.99	11.4	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	17.39
42	890727	9.00	14.9	1200	1354.868	0.999981	395.9	-7.02	10.0	0.00	0.00	0.00	-2.249	0.000	0.000	8.99
43	890727	10.00	14.6	1200	1365.034	1.000032	999.9	9.99	8.5	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	6.09
44	890727	11.00	13.9	1225	1418.216	1.000166	390.2	6.98	8.5	0.00	0.00	0.00	3.682	0.000	0.000	3.33
45	890727	12.00	13.1	1300	1536.055	1.000348	360.2	6.98	5.1	0.00	0.00	0.00	3.720	0.000	0.000	1.76
46	890727	13.00	12.5	1550	1860.046	1.000630	336.7	6.93	1.7	0.44	4.22	0.00	4.726	0.000	0.000	1.12
47	890727	13.25	12.6	9999	9999.9999	9999.9999	331.5	6.94	99.9	5.67	5.56	1.17	6.782	0.000	1.714	999.99
48	890727	13.50	12.6	1750	2094.611	1.000976	326.5	6.88	99.9	5.94	10.14	1.30	7.229	0.000	1.836	999.99
49	890727	13.75	12.9	9999	9999.9999	9999.9999	317.7	6.95	99.9	0.65	17.13	8.49	12.067	0.000	3.400	999.99
50	890727	14.00	13.2	1925	2268.715	1.000804	311.2	6.91	1.2	5.05	48.86	26.72	10.903	0.000	2.938	0.51
51	890727	14.25	99.9	9999	9999.9999	9999.9999	306.7	6.92	99.9	0.38	53.16	29.55	9.182	0.000	2.509	999.99
52	890727	14.50	13.3	9999	9999.9999	9999.9999	302.8	6.93	99.9	0.21	48.32	30.83	9.552	0.000	2.570	999.99
53	890727	15.00	13.3	2000	2351.077	1.000844	301.1	6.95	0.8	0.02	50.20	30.58	11.244	0.000	2.999	0.16
54	890727	16.00	13.3	2000	2351.077	1.000844	301.1	6.97	0.8	6.36	51.01	28.91	10.354	0.000	2.754	0.00
55	890727	17.00	13.3	2000	2351.077	1.000844	300.0	6.98	0.8	3.61	52.62	29.93	7.774	0.000	2.938	0.00
56	890727	18.00	14.3	1750	2005.692	1.000486	999.9	9.99	0.0	999.99	999.99	999.99	999.999	0.000	999.999	0.00
57	890803	0.00	22.2	1300	1237.025	0.998518	386.3	-7.13	10.2	0.00	0.00	0.00	-1.488	0.000	0.000	100.00
58	890803	1.00	22.0	1300	1242.560	0.998567	999.9	9.99	10.2	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	79.85
59	890803	2.00	22.1	1300	1239.788	0.998543	999.9	9.99	10.0	0.00	0.00	0.00	999.999	0.000	0.000	66.42

G. E. U. B. B.













891026 11.00 18.9 1025 1051.317 0.999096 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 3.49  
1 891026 12.00 18.7 1100 1133.505 0.999187 307.3 7.15 6.5 0.00 0.46 0.00 1.493 0.000 0.000 2.49  
2 891026 12.25 99.9 9999 9999.999 9.999999 307.3 6.70 3.2 0.00 0.00 0.46 0.000 1.714 999.999  
3 891026 12.50 18.4 1215 1323.074 0.999366 296.2 6.70 0.5 2.42 0.46 0.00 4.896 0.000 2.570 1.48  
4 891026 12.75 99.9 9999 9999.999 9.999999 291.1 6.70 0.0 1.42 0.00 9.638 0.605 8.140 999.999  
5 891026 13.00 17.9 1400 1469.960 0.999553 289.4 6.60 0.0 127.89 4.76 0.53 19.205 1.361 18.115 0.81  
6 891026 13.25 99.9 9999 9999.999 9.999999 281.0 6.55 0.0 6.34 5.56 1.17 12.818 3.629 17.626 999.999  
7 891026 13.50 17.7 1490 1571.870 0.999655 277.5 6.60 0.0 15.03 21.70 7.98 13.877 7.862 63.281 0.13  
8 891026 13.75 99.9 9999 9999.999 9.999999 52.6 6.60 0.0 53.95 9.60 42.39 5.666 1.361 12.913 999.999  
9 891026 14.00 17.7 1600 1687.915 0.999729 0.5 6.60 0.0 75.04 7.72 45.60 6.158 1.512 12.730 999.999  
10 891026 14.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 0.0 92.72 999.99 999.99 5.791 1.210 15.720 999.999  
11 891026 15.00 17.8 1600 1683.927 0.999708 -19.6 6.60 0.0 73.16 10.67 45.34 4.658 1.346 11.567 0.02  
12 891026 16.00 17.8 1600 1683.927 0.999708 -22.5 6.60 0.0 61.25 50.47 34.56 6.048 1.512 14.321 0.00  
13 891026 17.00 17.8 1600 1683.927 0.999708 -22.5 6.60 0.0 148.93 999.99 40.98 6.079 1.572 14.774 0.00  
14 891026 18.00 17.8 1600 1683.927 0.999708 -46.1 6.60 0.0 999.99 999.99 45.08 6.945 1.663 14.627 0.00  
15 891026 18.50 17.8 1600 1683.927 0.999708 999.9 9.99 0.0 999.99 999.99 46.37 999.999 999.999 999.999 0.00  
16 891026 18.80 18.3 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 0.0 999.99 999.99 999.999 999.999 999.999 0.00  
17 891101 0.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 301.2 7.25 8.2 0.00 0.00 1.423 0.000 0.000 100.00  
18 891101 0.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 301.2 7.25 8.2 0.00 0.00 1.423 0.000 0.000 100.00  
19 891101 1.00 18.6 1100 1136.151 0.999207 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 89.69  
20 891101 1.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 73.84  
21 891101 2.00 18.6 1075 1110.330 0.999191 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 60.75  
22 891101 2.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 49.16  
23 891101 3.00 18.6 1050 1084.508 0.999174 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 39.15  
24 891101 3.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 99.9 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 35.58  
25 891101 4.00 18.6 1050 1084.508 0.999174 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 29.44  
26 891101 4.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 99.9 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 25.17  
27 891101 5.00 18.6 1050 1084.508 0.999174 359.9 7.40 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 20.52  
28 891101 6.00 18.6 1025 1058.686 0.999158 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 17.64  
29 891101 7.00 18.6 1025 1058.686 0.999158 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 13.18  
30 891101 8.00 18.6 1025 1058.686 0.999158 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 9.54  
31 891101 9.00 18.6 1010 1043.193 0.999148 999.9 9.99 8.2 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 7.03  
32 891101 10.00 18.6 1010 1043.193 0.999148 302.8 7.41 8.1 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 5.24  
33 891101 11.00 18.6 1010 1043.193 0.999148 999.9 9.99 8.1 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 3.92  
34 891101 11.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 99.9 0.00 0.00 0.00 999.999 0.000 0.000 2.94  
35 891101 12.00 18.6 1010 1043.193 0.999148 305.0 7.41 7.9 0.00 0.00 0.02 1.594 0.000 0.000 2.43  
36 891101 12.25 99.9 9999 9999.999 9.999999 306.0 7.42 99.9 0.00 0.00 0.14 0.814 0.000 0.184 2.17  
37 891101 12.50 18.5 1210 1252.689 0.999301 311.1 7.15 2.2 0.00 0.00 0.02 1.411 0.000 0.490 1.64  
38 891101 12.75 99.9 9999 9999.999 9.999999 304.0 6.95 99.9 0.00 0.00 0.00 1.43 2.309 0.000 1.530 1.29  
39 891101 13.00 18.1 1425 1489.176 0.999528 304.7 6.90 0.3 34.94 0.00 0.02 9.024 1.663 9.486 0.93  
40 891101 13.25 99.9 9999 9999.999 9.999999 302.2 6.90 0.0 999.99 9.33 20.30 17.789 5.443 45.900 0.25  
41 891101 13.50 17.8 1510 1589.205 0.999647 298.2 6.90 0.0 999.99 9.33 20.30 17.789 5.443 45.900 0.25  
42 891101 13.75 99.9 9999 9999.999 9.999999 293.3 6.92 0.0 28.04 17.66 42.90 19.272 9.677 2.693 999.999  
43 891101 14.00 17.9 1610 1690.454 0.999694 103.5 6.85 0.0 76.83 37.83 60.11 6.734 1.058 16.034 0.11  
44 891101 14.50 17.9 1625 1706.203 0.999794 85.4 6.85 0.0 999.99 999.99 59.34 4.152 1.210 14.443 0.04  
45 891101 15.00 17.9 1610 1690.454 0.999694 84.4 6.85 0.0 36.18 34.87 55.23 4.152 0.907 10.098 0.02  
46 891101 15.50 99.9 9999 9999.999 9.999999 999.9 9.99 0.0 999.99 999.99 999.999 999.999 999.999 0.01  
47 891101 16.00 17.9 1610 1690.454 0.999694 78.5 6.85 0.0 999.99 26.00 56.00 4.375 0.756 11.934 0.00  
48 891101 17.00 17.9 1610 1690.454 0.999694 78.6 6.85 0.0 999.99 46.17 66.27 5.278 1.058 14.076 0.00  
49 891101 18.00 17.9 1610 1690.454 0.999694 79.5 6.85 0.0 999.99 59.07 58.69 3.835 0.756 10.404 0.00  
50 891101 18.50 17.9 1610 1690.454 0.999694 999.9 9.99 0.0 999.99 999.99 999.999 999.999 999.999 0.00  
51 891101 18.80 17.9 1610 1690.454 0.999694 999.9 9.99 0.0 999.99 999.99 999.999 999.999 999.999 0.00  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60