

**BACTERIOPLANCTON DE TRES LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA TROPICAL
ANDINA EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ, COLOMBIA**

LUZ ANDREA MENESES ORTEGÓN



UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TUNJA

2013

**BACTERIOPLANCTON DE TRES LAGUNAS DE ALTA MONTAÑA TROPICAL
ANDINA EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ, COLOMBIA**

LUZ ANDREA MENESES ORTEGÓN



**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE
MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

DIRIGIDO POR:

YIMY HERRERA MARTÍNEZ M.Sc. Cand. Ph.D

UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TUNJA

2013

NOTA DE ACEPTACIÓN

MARIBEB CASTRO GONZÁLEZ Ph.D

Jurado

GABRIEL A. PINILLA A. Ph.D

Jurado

JEOVANNY ARLES GÓMEZ C. Ph.D

Director Escuela de Posgrados

JAIRO ANTONIO CAMACHO M.Sc

Coordinador Académico

YIMY HERRERA MARTÍNEZ M.Sc. Ph.D(c)

Director

ANDREA MENESES ORTEGÓN

Autor

DEDICATORIA

A mis padres...

*Con apoyo y paciencia me han acompañado y
guiado en el camino de la vida. Los Amo.*

A mis hermanos...

AGRADECIMIENTOS

Hoy, que culmino una etapa más en mi vida, quiero agradecer a todos aquellos que aportaron su granito de arena para que esto se hiciera realidad:

A Dios por estar siempre presente y acompañarme en cada paso que doy en la vida.

A mis padres, porque con su paciencia han logrado de mí una persona de bien y han sido un apoyo incondicional en este proceso.

A mis hermanos, por acompañarme a campo, por ayudarme en laboratorio, por sus palabras de aliento y sobre todo por ser los mejores hermanos del mundo.

A mi novio Daniel Valenzuela, porque aún desde la distancia siempre ha sabido acompañarme y apoyarme, con sus palabras y su amor que me ha brindado desde hace ya casi 6 años, te amo.

A mi Director profesor Yimy Herrera Martínez, por su amistad, apoyo, tiempo y conocimientos que fueron muy valiosos para la culminación de esta etapa y, espero, comienzos de la próxima.

A mis jurados, por sus oportunas sugerencias y el tiempo que dedicaron para leer este documento.

A mis compañeros de semestre Anita, Jaime, Elsa, Diana, Alix, María Inés, Andrea, Linda, Javier, Carlos, Luz Andrea, Merly quienes con sus aportes enriquecieron mis conocimientos e hicieron las clases más productivas de la mano de los profesores Carolina, Leopoldo, Zayda, María Eugenia, Fredy, Yimy, Jorge.

A mis compañeros de trabajo Mabel, Oscar, Ariel, Ricardo, Mónica por su colaboración en campo y laboratorio y Mabel y Ariel por su amistad.

A Yolima Uribe, por hacer curso en filtrar muestras de agua con bomba manual y junto con Juanpis, fueron un gran apoyo, muchas gracias por eso.

A Ricardo Corredor, por su apoyo en campo, en laboratorio y por su amistad.

A la Empresa Colombiana de Petróleos-Ecopetrol, quien con su aporte financiero permitió que este proyecto se pudiera realizar.

A la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia y dentro de ella la Dirección de Investigaciones y el Grupo de Investigación Manejo Integrado de Ecosistemas y Biodiversidad Xiuâ, por brindarme las instalaciones y los recursos necesarios para desarrollar este proyecto.

Espero no se me haya pasado nadie pero si es así, gracias a todos los que apoyaron esta etapa y permitieron que llegara a su final...

muchas, muchas Gracias

CONTENIDO

| | pag. |
|--|-------------|
| RESUMEN | 10 |
| ABSTRACT | 11 |
| INTRODUCCIÓN | 12 |
| 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 15 |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 17 |
| 3. OBJETIVOS | 19 |
| <i>3.1. Objetivo General</i> | 19 |
| <i>3.2. Objetivos Específicos</i> | 19 |
| 4. REFERENTE TEÓRICO | 20 |
| 4.1. Variables físico-químicas que afectan a los microorganismos | 21 |
| HIPÓTESIS | 25 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 26 |
| <i>5.1. Área de Estudio</i> | 26 |
| <i>5.2. Muestreo en campo</i> | 29 |
| <i>5.3. Procesamiento en laboratorio</i> | 30 |
| <i>5.4. Análisis de Datos</i> | 31 |
| 6. RESULTADOS | 33 |
| 7. DISCUSIÓN | 47 |
| 8. CONCLUSIONES | 57 |
| 9. RECOMENDACIONES | 58 |
| 10. BIBLIOGRAFÍA | 59 |

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Morfometría de las Lagunas de estudio

Tabla 2. Promedio de abundancia y biomasa bacterianas en las Lagunas

Tabla 3. Anova para las abundancias bacterianas por profundidad y época.

Tablas 4. Anova para las biomásas bacterianas por profundidad y época.

Tabla 5. Anova para abundancia y biomasa bacterianas entre lagunas.

Tabla 6. Valores promedio de las variables físico-químicas y de clorofila α . Los mayores valores de cada variable se resaltan en negrita. CV: Coeficiente de variación.

Tabla 7. Matriz triangular del Coeficiente de Correlación de Pearson y los valores de p. Valor crítico 0,195 para $n=72$ con 70 grados de libertad y alfa de 0,05.

Tabla 8. Componentes principales (CP), porcentaje de aporte a la variación de cada componente y porcentaje acumulado de los CP.

Tabla 9. Aporte a la variación de cada variable en cada componente principal (CP). En negrita los mayores valores de aporte en los primeros dos componentes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. “Microbial Loop”. Tomado de Brönmark & Hansson (2005)

Figura 2. Precipitación promedio para los páramos de Rabanal y La Rusia en el periodo 2000-2012.

Figura 3. Caracterización bacteriana con coloración de Gram.

Figura 4. Izquierda abundancia bacteriana promedio y Derecha biomasa bacteriana promedio.

Figura 5. Promedio de la abundancia por época climática. A la izquierda el promedio total y a la derecha los promedios por laguna.

Figura 6. Promedio de la biomasa por época climática. A la izquierda el promedio total y a la derecha los promedios por laguna.

Figura 7. Resumen de los Diagramas de cajas y comparación de las principales variables entre lagunas.

Figura 8. Valores promedio de las variables físico-químicas por época climática.

Figura 9. Izquierda correlación entre abundancia bacteriana y clorofila α . Derecha correlación entre Biomasa bacteriana y materia orgánica.

Figura 10. Análisis de componentes principales (ACP), muestra la distribución de las lagunas en relación a las variables físico-químicas, clorofila α y épocas climáticas.

RESUMEN

La cadena trófica tradicional es una interacción directa entre depredadores y presas, en donde un depredador tope puede afectar positivamente a las especies basales ya que controla los depredadores de estos. En ésta, una parte de la energía se creía perdida de un nivel a otro, sin embargo, gracias al concepto de cadena trófica detritívora y “bucle microbiano”, se describió que es reciclada y reincorporada al ciclo de materia y energía, a través de las bacterias en tres pasos: procesamiento y descomposición de la materia orgánica, remineralización de nutrientes y alimento de otros niveles tróficos. A pesar de su importancia es poco lo que se conoce de su estructuración en los ecosistemas tropicales altoandinos, por esta razón, el objetivo de este trabajo fue evaluar la variabilidad bacterioplanctónica en lagos altoandinos de Boyacá en tres épocas climáticas. Para lo cual se tomaron muestras triplicadas en tres zonas, superficie, fondo y litoral, en las Lagunas Cristalina, Negra y Verde de Boyacá y se determinó la biomasa, abundancia y formas bacterianas, así como variables físico-químicas (nitritos, nitratos, fosfatos, materia orgánica, temperatura, pH, conductividad, oxígeno) y clorofila α . Se encontró que la abundancia y biomasa bacteriana están dentro del rango establecido para lagos oligotróficos y las formas bacilares son las más comunes en estos ecosistemas. La clorofila α es importante para explicar la estructuración del bacterioplancton gracias a la correlación que existe de aporte de materia orgánica por parte del fitoplancton y remineralización de nutrientes por parte de las bacterias. Se concluyó que el fósforo puede ser un nutriente limitante para el bacterioplancton.

ABSTRACT

The traditional food chain is a direct interaction between predators and preys, where a top predator can positively affect basal species due to the control the predators over the other preys. In that section, a part of the energy in one level to another is believed get lost however thank to the detritivore food chain concept and "microbial ring", have been reported that is recycled and reincorporated into the cycle of matter and energy by bacteria in three steps: (1) Processing and decomposition of organic matter, (2) remineralization of nutrients and (3) other food trophic levels. Despite its importance, little is known of its structure in high Andean tropical ecosystems, for this reason, the aim of this study was to evaluate the bacterioplanktónica variability in Andean lakes of Boyaca in three climatic seasons. Triplicate samples were taken in three zones on each lake, surface and coastal background in Laguna Cristalina, Negra and Verde-Boyacá and determined biomass, abundance and bacterial forms and physico-chemical variables (nitrites, nitrates, phosphates, organic matter, temperature, pH, conductivity, oxygen) and chlorophyll α . We found that bacterial abundance and biomass are within the range for oligotrophic. Bacillary forms are most common in these ecosystems and Chlorophyll α is important part to explain the structure of bacterioplankton by the correlation of input of organic matter by phytoplankton and nutrient remineralization by bacteria. It was concluded that phosphorus could be a limiting nutrient from the bacterioplankton.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias plantónicas juegan un papel importante en la ecología de los sistemas acuáticos ya que cumplen tres funciones: procesamiento y descomposición de la materia orgánica proveniente del fitoplancton, zooplancton y las excretas de peces en forma de carbono orgánico disuelto (COD); remineralización de nutrientes y, en tercer lugar, como alimento para niveles tróficos superiores como protozoos y microzooplancton (ciliados y flagelados) (Pomeroy 1974, Azam *et al.* 1983, Cole 1999, Muyllaert *et al.* 2002, Fenchel 2008). Esto hace que sean las responsables del control y equilibrio de los ecosistemas, ya que permiten que la energía se reincorpore a la cadena trófica tradicional y se constituya el bucle microbiano (Azam *et al.* 1983, Brönmark and Hansson 2005).

El crecimiento y desarrollo de los microorganismos en los sistemas acuáticos depende de procesos bióticos, condiciones ambientales y la disponibilidad de nutrientes. Estas variaciones son evidentes a escalas temporales (estacionales, interanuales) y espaciales (dentro y entre lagos) (Currie 1990, Callieri and Bertoni 1999).

El consumo realizado por los niveles superiores de la cadena trófica disminuye la abundancia y biomasa bacterioplanctónica (Azam *et al.* 1983, Wright *et al.* 1987, Hadas *et al.* 1990). En contraste, la relación entre el bacterioplancton y fitoplancton favorece el crecimiento bacteriano debido, principalmente, al aporte de

carbono orgánico disuelto (COD) por parte de las algas, quienes se favorecen de las bacterias a través de la reincorporación de nutrientes al sistema (Baines and Pace 1991, Coveney and Wetzel 1995, Brett *et al.* 1999, Canosa and Pinilla 2007). Esta relación está limitada por factores ambientales, como la temperatura y la disponibilidad de nutrientes, principalmente nitrógeno y fósforo, que regulan el crecimiento de las dos poblaciones y que son características de cada ecosistema (Coveney and Wetzel 1995). Algunos autores, plantean que la relación fito-bacterioplancton es de competencia por la limitación de los nutrientes que ocurre en lagos oligotróficos (Coveney and Wetzel 1995); pero otros concluyen que no hay competencia ya que cada comunidad está limitada por nutrientes diferentes (fitoplancton por nitrógeno y bacterioplancton por fósforo) (Vrede *et al.* 1999).

La disponibilidad de nutrientes (carbono orgánico, nitrógeno y fósforo), por lo tanto, también regularía el crecimiento bacteriano, ya que al estar disponibles podrían ser fácilmente asimilados por las bacterias, lo que favorece su tasa de crecimiento (White *et al.* 1991, Morris and Lewis Jr 1992, Roldan-Pérez 1992, Salonen *et al.* 1994, Shiah and Ducklow 1994, Brett *et al.* 1999, Callieri and Bertoni 1999, Vrede *et al.* 1999, Brönmark and Hansson 2005). A su vez, los nutrientes pueden ser regulados por la época climática, en donde las lluvias pueden aumentar la cantidad de estos gracias a los procesos de escorrentía, lo que aumentaría la biomasa bacterioplanctónica a través del control “bottom-up”, esto indica que los periodos climáticos podrían ser un factor que afecte al plancton bacteriano.

A pesar de la importancia que presentan estos microorganismos para los ecosistemas acuáticos, no se han realizado estudios en los lagos altoandinos del departamento de Boyacá. Por lo tanto el propósito de este trabajo fue realizar estudios sobre la biomasa y abundancia bacterioplanctónica y sus variaciones en relación con la disponibilidad de nutrientes y los cambios climáticos que se puedan presentar en las tres épocas muestreadas. Este estudio se realizó en el marco de los proyectos de investigación: “*Relación entre la clorofila α y la biomasa bacteriana en humedales altoandinos de la Cordillera Oriental colombiana*”, financiado por la Dirección de Investigaciones – DIN de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia –UPTC; e “*Impacto de la introducción de una especie exótica, la trucha, sobre humedales de alta montaña del complejo oriental de la región natural andina*”, financiado por ECOPETROL y la DIN de la UPTC, a través del Convenio DHS 5211416-2011 (UPTC 132).

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la década de los ochentas se introduce el término “bucle microbiano” para referirse a la importancia que cumplen las bacterias en las redes tróficas acuáticas, a través de la reincorporación de la energía a la cadena alimentaria (Azam *et al.* 1983). Los primeros estudios se realizaron en el mar, mientras que en la zona tropical de América son pocos los que se han realizado; se destacan los trabajos de Castillo (2000) en Venezuela, Rojas *et al.* (2002) en Bolivia y Caraballo-Gracia (2010) en Brasil, pero estos se realizaron en lagos con pulso de inundación. En Colombia se resalta el trabajo de Canosa & Pinilla (2007) quienes realizaron un estudio en el que demostraron que la abundancia y biomasa bacteriana no varía entre el embalse de Prado, la laguna de Fúquene y el lago Neusa a pesar de que ecológicamente son diferentes, reflejado en que la biomasa bacteriana permanece constante en diferentes cuerpos de agua; sin embargo estos ecosistemas son de meso a eutróficos, lo que marca la diferencia con el presente trabajo, que se realizó en lagos oligotróficos.

En la actualidad no sabemos cómo está estructurado el bacterioplancton (en cuanto a biomasa, abundancia y composición) de los lagos andinos tropicales de alta montaña y cómo estos se ven afectados por las épocas climáticas a lo largo del año.

En el presente trabajo se determinó la biomasa y la abundancia bacteriana y se realizó una caracterización morfológica del bacterioplancton en lagunas de alta montaña tropical y su variación frente a la disponibilidad de nutrientes (carbono, nitrógeno y fosforo) en tres épocas climáticas.

Por lo anterior se plantearon las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Cómo varía la biomasa y abundancia bacterioplanctónica en lagunas altoandinos del departamento de Boyacá?
2. ¿Hay diferencias en la caracterización bacteriana (morfología y coloración Gram) dentro y entre lagunas?
3. ¿El carbono, nitrógeno y fósforo afectan el bacterioplancton? Y si lo afectan ¿cómo?
4. ¿Hay variabilidad bacterioplantónica entre épocas climáticas?

2. JUSTIFICACIÓN

La red trófica tradicional (herbívora), centro de las investigaciones en sistemas acuáticos, está compuesta por fitoplancton, zooplancton y grandes depredadores como los peces (Carpenter *et al.* 1985, Hodgson 2005); en ésta se cree que una parte de la energía se “pierde” de un nivel trófico al siguiente, sin embargo cuando se descubrió que las bacterias son las encargadas de descomponer la materia orgánica (Lindeman 1942) y, a través de éste proceso, reciclar nutrientes al ser consumidas por protozoarios y flagelados se completa el flujo de energía en la cadena trófica (Azam *et al.* 1983, Pomeroy and Darwin 2007).

A partir de esto, surge el término “bucle microbiano” en el que las bacterias cumplen un papel central en el metabolismo de ecosistemas acuáticos a través del reciclaje de energía hacia los niveles tróficos superiores (Muylaert *et al.* 2002); lo que mantiene el equilibrio energético y permite que se complete el ciclo alimentario (Lindeman 1942, Covich 2006), esto genera el concepto de cadena trófica detritívora.

El bacterioplancton es fundamental en el control de la productividad de los sistemas acuáticos (Kerner *et al.* 2003), donde transfiere una cantidad de energía de entre el 10 y 50% del carbono de la fotosíntesis a través de la vía Carbono Orgánico Disuelto (COD) - bacterias - protozoos (Caraballo 2009), y aporta aproximadamente un $33,7 \pm 22,4\%$ del carbono total para sus consumidores (Work

et al. 2005). Esto indica que un porcentaje importante del carbono disponible en los sistemas acuáticos proviene principalmente de las bacterias (Callieri and Bertoni 1999).

El departamento de Boyacá-Colombia presenta el mayor número de Páramos a nivel mundial (Morales *et al.* 2007). En éstos ecosistemas se ubica un porcentaje significativo de lagos oligotróficos de alta montaña tropical, en tres de los cuales se realizó el presente trabajo. Este estudio permitió aportar al conocimiento de la dinámica bacterioplanctónica en lagos de alta montaña tropical de Sur América, lo que abre una ventana al conocimiento científico ya que la mayor cantidad de información generada en éste tema proviene de estudios en el mar y en lagos eutrofizados.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Evaluar la variabilidad bacterioplanctónica en lagunas altoandinas de Boyacá en tres épocas climáticas.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la caracterización bacteriana (morfología y coloración Gram) presente en las lagunas.
- Estimar la biomasa y abundancia bacterioplanctónica en tres lagunas de Boyacá.
- Evaluar las variables físico-químicas (carbono, nitrógeno, fósforo) de las lagunas estudiadas.
- Establecer la variabilidad estructural del bacterioplancton con respecto a las variables físico-químicas y a la clorofila α , dentro y entre lagunas y en las tres épocas estacionales.

4. REFERENTE TEÓRICO

La cadena trófica tradicional es una interacción directa entre depredadores y presas, en donde un depredador tope puede afectar positivamente a las especies basales ya que controla los depredadores de estas (Carpenter *et al.* 1985); aquí se presenta flujo de energía a través de los organismos y cada eslabón se denomina nivel trófico, refiriéndose al tipo de alimento que consumen los organismos (Wetzel 1983). En esta cadena, una parte de la energía se creía perdida de un nivel a otro; sin embargo, gracias a los conceptos de cadena trófica detritívora y “bucle microbiano”, se descubrió que se recicla y reincorpora al ciclo de materia y energía (Azam *et al.* 1983, Brönmark and Hansson 2005, Pomeroy and Darwin 2007).

Los organismo encargados de este reciclaje son las bacterias, quienes participan principalmente en los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno y fosforo a través de los procesos de mineralización y transformación química de estos nutrientes de inorgánicos a orgánicos, dejándolos disponible para ser utilizados por los niveles tróficos superiores (Azam *et al.* 1983, Kirchman 1994, Klug 2005). Las bacterias también participan en el ciclo del carbono a través de la oxidación directa del carbono orgánico disuelto (COD) o materia orgánica (proveniente del fitoplancton, zooplancton y heces de peces) a CO₂; y transfieren el carbono en la cadena trófica ya que son el alimento más abundante para rotíferos, crustáceos y protozoarios (como ciliados y flagelados heterotróficos) en los lagos (Azam *et al.* 1983, Reche

1997, Belgrano *et al.* 2005, Brönmark and Hansson 2005, Pomeroy and Darwin 2007) (Figura 1).

Lo anterior resalta la importancia de estudiar el bacterioplancton en los ecosistemas acuáticos, debido a que éste reduce la pérdida de energía, motor de los seres vivos, en el paso de un nivel a otro, y ayuda a su conservación a través del reciclaje efectuado.

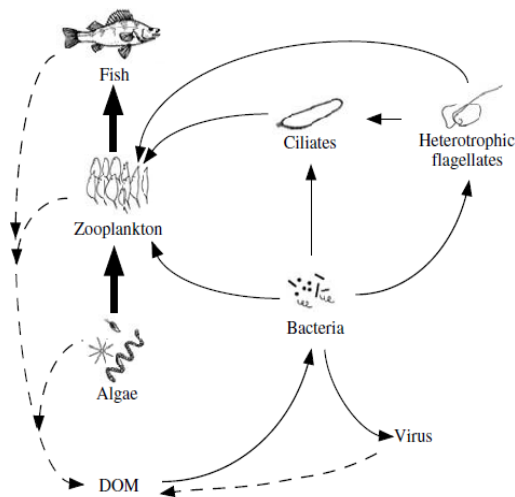


Figura 1. "Microbial Loop". Tomado de Brönmark & Hansson (2005)

4.1 Variables físico-químicas que afectan a los microorganismos

El desarrollo de los microorganismos en los sistemas acuáticos depende de las condiciones ambientales en las cuales habita. Se destacan la disponibilidad de Carbono Orgánico Disuelto (COD) o materia orgánica, la temperatura y las sustancias inorgánicas (Azam *et al.* 1983, Coveney and Wetzel 1995, Reche 1997).

Fujii *et al.* (2012) demostraron que el COD alóctono es un factor que tiene un efecto significativo sobre el bacterioplancton, especialmente en lagos oligotróficos, ya que las cantidades bajas de éste, disminuyen el crecimiento bacteriano. Los estudios reportan que las concentraciones de carbono autóctono en lagos oligotróficos oscilan entre 0,37 y 2,35 mg C l⁻¹ (Morris and Lewis Jr 1992, McKnight *et al.* 1997, Bertoni *et al.* 1998, Callieri and Bertoni 1999) lo que hace que la biomasa y abundancia bacteriana sean menores (1-30 µg C l⁻¹ y 0,2x10⁶ células ml⁻¹, respectivamente) (Morris and Lewis Jr 1992, Callieri and Bertoni 1999). En lagos eutróficos se presentan biomasa de plancton bacteriano en un rango de 200-1000 µg C l⁻¹ (Lindström 2000), lo que prueba una fuerte correlación entre la disponibilidad de carbono orgánico con el bacterioplancton.

Así mismo, el estudio realizado por Callieri & Bertoni (1999), en un lago de alta montaña de los Alpes Italianos, sugiere que en lagos oligotróficos el aporte de carbono proviene principalmente del componente microbiano hacia los niveles tróficos superiores.

Las formas bacterianas parecen también depender de la disponibilidad del carbono. Callieri & Bertoni (1999) reportaron que las formas filamentosas y bacilos grandes son predominantes en ambientes con concentraciones elevadas de carbono (58 - 63 µg C l⁻¹) y Burns & Schallenberg (1998), encontraron que las

bacterias heterotróficas en un lago oligotrófico de Nueva Zelanda presentaban mayor dominancia de cocos y bacilos pequeños.

El mismo fenómeno sucede con los nutrientes nitrógeno (N) y fósforo (P), ya que en ambientes oligotróficos las concentraciones son limitadas ($1,5 - 5 \text{ mg N l}^{-1}$ y $<5 \text{ } \mu\text{g P l}^{-1}$) (Coveney and Wetzel 1995) lo que respalda la hipótesis de que en este tipo de ecosistemas se presenta un control del tipo “bottom-up”, en donde la restringida cantidad de nutrientes y carbono orgánico evita, no solo el crecimiento bacteriano, sino el desarrollo y productividad de los siguientes niveles tróficos (Coveney and Wetzel 1992, Pace and Cole 1994, Coveney and Wetzel 1995, Dufour and Torrétón 1996, Burns and Schallenberg 1998, Muylaert *et al.* 2002).

Los estudios antes mencionados en torno a la biomasa y abundancia bacterioplanctónica y los factores que afectan su distribución, se centran en su mayoría en Europa, Asia y Norte América, en dónde las condiciones ambientales difieren de las neotropicales por la presencia de estaciones (además de otras características, como el origen de los lagos, la temperatura y la humedad) que hacen que los lagos se encuentren cubiertos de hielo en un periodo del año y de esta forma, especialmente la temperatura, varía a lo largo del ciclo anual (Bjornsen 1986, Cole *et al.* 1988, Bjornsen and Kuparinen 1991, Cole *et al.* 1993, Shiah and Ducklow 1994, Elser *et al.* 1995, Brett *et al.* 1999, Wille *et al.* 1999).

En el trópico, los estudios realizados se llevaron a cabo en lagos con pulso de inundación, los cuales presentan características diferentes de los lagos de alta montaña, ya que son influenciados por algún río en épocas de lluvia y sequía (Castillo 2000, Rojas *et al.* 2002, Caraballo-Gracia 2010). Castillo (2000) concluye que en época de lluvia la producción bacteriana y la abundancia aumentan debido a la entrada de agua proveniente del río y permanece constante en todos los lugares de muestreo, debido a que la inundación puede influenciar factores como el COD y los nutrientes, que se ha demostrado controlan las células bacterianas, ya que son el alimento principal del componente microbiano.

En Colombia, se han realizado estudios de bacterioplancton principalmente en la zona costera (Gocke *et al.* 2004, Barragán *et al.* 2009), lo que establece una diferencia con los lagos Andinos por la salinidad característica de los mares; igualmente sucede con los lagos influenciados por un río (Pinilla *et al.* 2007) en los que la carga orgánica aumenta con la descarga del río.

En lagos andinos se han realizado tres estudios, dos de los cuales fueron en relación con la abundancia y biomasa bacterioplanctónica en donde se registró que no hay diferencia entre los lagos estudiados a pesar sus estados tróficos (Canosa and Pinilla 2001, Canosa and Pinilla 2007), sin embargo los lagos de éstos estudios son principalmente eutróficos.

HIPÓTESIS

En lagunas oligotróficas donde la carga orgánica y la disponibilidad de nutrientes es limitada, la biomasa y la abundancia bacterianas son bajas y están relacionadas directamente con la cantidad de materia orgánica y nutrientes como el fósforo y el nitrógeno. Igualmente, al evaluar éstas variables en tres épocas estacionales, se espera que en época de lluvias disminuya la biomasa y abundancia bacteriana por efecto de la dilución de los nutrientes, mientras que en época de sequía, éstas aumentarían por la concentración de los nutrientes.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Área de estudio

Este estudio se llevó a cabo en las lagunas Cristalina, Mongua y Verde del Departamento de Boyacá – Colombia (Mapa 1). La laguna Cristalina (Foto 1, Tabla 1) se ubica en el Páramo de la Rusia (Duitama) en el sector de Peña Negra, a una altura de 3772 msnm, geográficamente se ubica a los 05°57'34,21"N y 73°05'06,07"O, presencia de macrófitas en la zona litoral. Eventualmente hay presencia de ganado vacuno, pero en términos generales se encuentra en un área bien conservada.

La Laguna Negra (Foto 2, Tabla 1) se ubica en el Páramo de Mongua (Mongua) a una altura de 3530 msnm, geográficamente se ubica a los 05°42'40,95"N y 72°17'22,70"O, presencia de macrófitas en la zona litoral, hay presencia de trucha, ganado vacuno y escasos habitantes a su alrededor.

La Laguna Verde (Foto 3, Tabla 1) se encuentra en el Páramo de Rabanal (Ventaquemada) a 3325 msnm y a los 05°24'42,28"N y 73°32'41,87"O de ubicación geográfica. Presenta macrófitas, helechos, musgos en toda su extensión. A su alrededor hay cultivos de papa, sin embargo el impacto es mínimo ya que los procesos de esorrentía no drenan el agua hacia la laguna, sin embargo en su cercanía hay presencia de habitantes.

Tabla 1. Morfometría de las Lagunas de estudio

| Laguna | Prof. Máx (m) | Prof. Sechi (m) | Área (ha) | Área cuenca (ha) |
|------------|---------------|-----------------|-----------|------------------|
| Cristalina | 9 | 6,8 | 1,3 | 33,9 |
| Negra | 4,2 | 1,4 | 5,2 | 399 |
| Verde | 1,2 | 0,9 | 3,3 | 33,9 |



Mapa 1. Ubicación de las lagunas.



Foto 1. Laguna Cristalina.



Foto 2. Laguna Negra.



Foto 3. Laguna Verde.

5.2. Muestreo en campo

El muestreo se llevó a cabo en tres épocas climáticas: Intermedia, Lluviosa y Seca (Figura 1), basados en datos climáticos históricos de las zonas de estudio, las cuales correspondieron a los meses de julio y noviembre de 2012 y febrero de 2013, respectivamente. En cada laguna se tomaron tres muestras en tres puntos: de forma directa en la zona litoral y limnética superficial y utilizando una botella tipo Van Dorn en la zona limnética profunda (en Laguna Verde no se tomó muestra en la zona limnética profunda). Las muestras para estimación de biomasa y abundancia bacteriana se fijaron con formol al 4%, refrigeradas a 4°C y puestas en oscuridad para su posterior análisis. Se tomaron muestras para análisis físico-químicos (2000ml) (nitritos, nitratos, fosfatos y materia orgánica). Los datos de pH

y temperatura del agua se midieron con un pH metro marca Schott, oxígeno con un oxímetro marca YSI y conductividad con un conductímetro marca YSI. En total se tomaron 27 muestras en las lagunas Cristalina y Negra y 18 muestras en laguna Verde, para un total de 72 datos para cada variable.

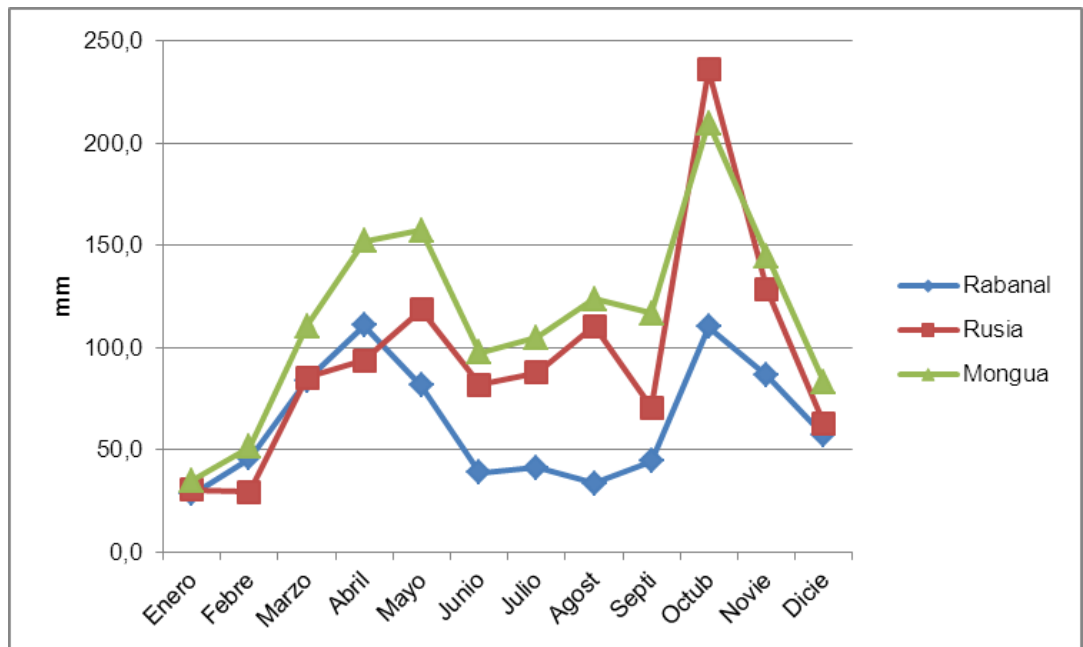


Figura 2. Precipitación promedio para los páramos en el periodo 2000-2012.

5.3. Procesamiento en laboratorio

La biomasa y abundancia bacteriana se estimaron por la técnica de epifluorescencia (Kepner Jr and Pratt 1994). Cada muestra se filtró por membranas de 125 μ m y 10 μ m, con el fin de retirar organismos por encima de este diámetro de poro y materiales en suspensión. Se tomaron 5 ml de la muestra filtrada y se hicieron pasar a través de un filtro de policarbonato negro de 25 mm de diámetro y 0,2 μ m de diámetro de poro (Millipore) que se coloreó con naranja

de acridina a una concentración final de 0,01%. Los conteos se realizaron en un microscopio de epifluorescencia Olympus BX51, en donde se contaron 20 campos por observación directa y corroborando con el programa Advanced Motoc 3,2 y se midieron 200 bacterias por filtro en donde se utilizó el mismo programa (Hobbie *et al.* 1977). Para la caracterización morfológica, se realizaron siembras sin dilución en agar Plate Count y se incubaron durante 48 horas, se hizo una descripción macroscópica de las colonias (color, textura, forma y borde) y se repicaron en agar nutritivo para su posterior caracterización mediante la coloración de Gram.

Las muestras de agua para clorofila α fitoplanctónica se filtraron a través de filtros Whatman GF/C, entre 1850 y 2000 ml por muestra. Los filtros se almacenaron a -20°C y se analizaron posteriormente con la técnica modificada de Nush (1980) y Sartory & Grobbelaar (1984).

La materia orgánica se determinó por el método de oxidabilidad al Permanganato de Potasio inmediatamente después de colectada la muestra (Rodier *et al.* 1990).

El agua filtrada se utilizó para la determinación de nutrientes siguiendo los métodos estándar establecidos por las entidades norteamericanas APHA, AWWA, y WEF. Las concentraciones de fosfatos (PO_4) se hallaron con el método 4500-P-E (método del ácido ascórbico), nitrógeno en forma de nitritos (NO_2) y nitratos (NO_3) con los métodos 4500- NO_2 (método colorimétrico) y 4500- NO_3 (método de reducción con cadmio) (APHA *et al.* (1999).

5.4. Análisis de datos

Los datos de abundancia y biomasa bacteriana se obtuvieron utilizando las siguientes ecuaciones.

- Abundancia = $3,94 \times 10^4$ n/d (APHA *et al.* (1999)
Abundancia celular (células/ml)
 $3,94 \times 10^4$: área húmeda de la membrana de 25 mm/área del micrométrico
 $= 201.06\text{mm}^2/0,0051\text{mm}^2 = 3,94 \times 10^4$
Nota: El área húmeda se determina midiendo el diámetro interno del embudo de filtración.
n: promedio de bacterias por campo micrométrico. Dividir el número total de bacterias entre el número total de campos contados.
d: factor de dilución
- Biovolumen bacteriano = abundancia (células/ml) * V (μm^3) (Posch *et al.* 2001)
V (μm^3): promedio de volumen celular bacteriano
- CC = $23 \times V^{0,72}$ (Norland 1993)
CC: contenido de carbono (biomasa celular = fg C célula⁻¹)
23: constante bacteriana de acuerdo al volumen celular
V: volumen celular (μm^3)
- Biomasa Bacteriana ($\mu\text{g C L}^{-1}$): Abundancia de células (células ml⁻¹) * Biomasa celular (fg C célula⁻¹) (Posch *et al.* 2001)

Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva; se determinó promedio, coeficiente de variación, valores máximos y mínimos y análisis de varianza de uno y dos factores para determinar diferencias entre lagunas, profundidades y épocas de muestreo. Se determinó el coeficiente de correlación de Pearson entre variables y se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con el programa Primer V.5, con el fin de determinar las relaciones entre variables físico-químicas y biológicas y para determinar y evaluar la agrupación de las muestras a lo largo del estudio.

6. RESULTADOS

6.1. Caracterización, Biomasa y Abundancia bacterioplanctónicas

Los resultados de la composición bacteriana muestran que de las 130 colonias aisladas, los bacilos Gram negativos son predominantes en un 73%, seguidos de los Bacilos Gram positivos con un 17%. El porcentaje restante (10%) estuvo integrado por cocos y cocobacilos Gram positivos y cocobacilos Gram negativos. Esta composición se presentó en proporción similar en cada una de las lagunas (Figura 3).

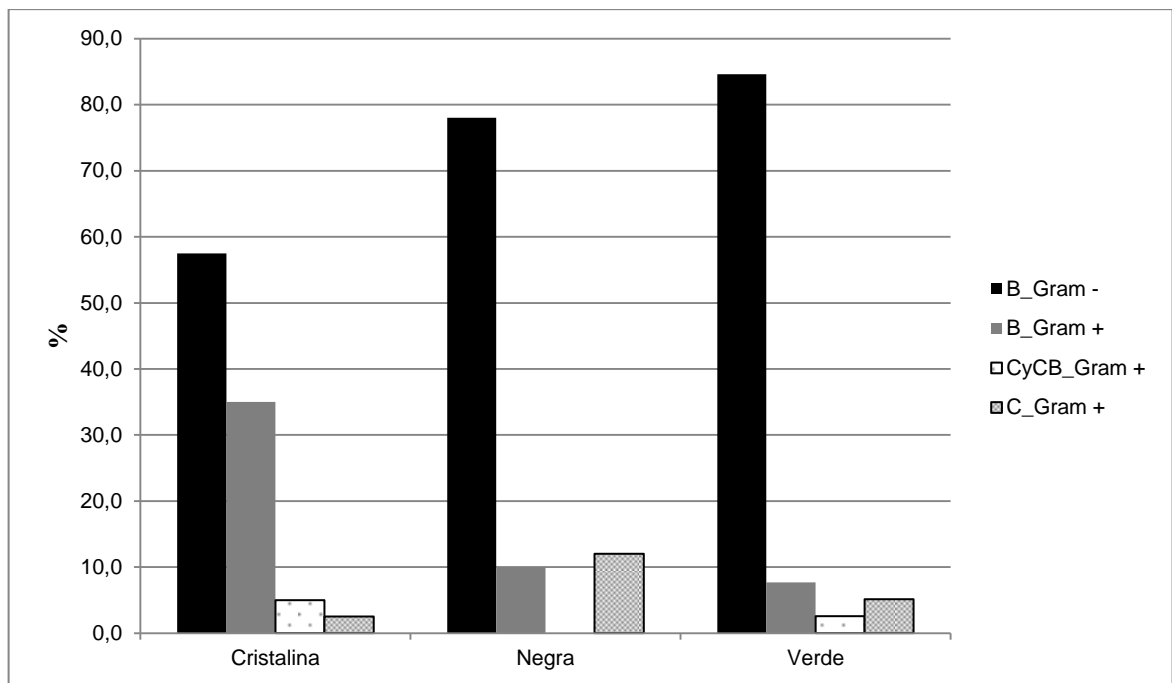


Figura 3. Caracterización bacteriana con coloración de Gram. B: Bacilos, C: Cocos, CB: Cocobacilos

La abundancia promedio total del bacterioplancton fue de $1,88 \times 10^6 \text{cél. ml}^{-1}$ y la biomasa promedio total fue de $18,65 \mu\text{g C.l}^{-1}$. Laguna Negra presentó la mayor abundancia con un promedio de $2,58 \times 10^6 \text{cél. ml}^{-1}$, seguida de Cristalina y Verde, respectivamente (Tabla 2, Figura 4). En cuanto a periodo climático, la época seca presentó el mayor promedio de abundancia ($3,18 \times 10^6 \text{cél. ml}^{-1}$) que se refleja en las tres lagunas (Figura 5). Sin embargo, el mayor promedio de biomasa bacterioplanctónica ocurrió en Laguna Cristalina, seguido de Negra y Verde (Tabla 2, Figura 4). La época seca presentó la mayor biomasa bacteriana con un promedio de $31,21 \mu\text{g C.l}^{-1}$, que al igual que la abundancia, fue equivalente en las tres lagunas (Figura 6).

Tabla 2. Promedios de abundancia y biomasa bacterianas en las Lagunas.

| Laguna | | <i>Abundancia Celulas.ml⁻¹</i> | <i>Biomasa μg C.l⁻¹</i> |
|-------------------|---------------------------------|---|--|
| <i>Cristalina</i> | <i>Promedio</i> | $1,54 \times 10^6$ | 21,9 |
| | <i>Coeficiente de variación</i> | 0,50 | 0,51 |
| <i>Negra</i> | <i>Promedio</i> | $2,58 \times 10^6$ | 20,3 |
| | <i>Coeficiente de variación</i> | 0,75 | 0,75 |
| <i>Verde</i> | <i>Promedio</i> | $1,33 \times 10^6$ | 11,3 |
| | <i>Coeficiente de variación</i> | 0,37 | 0,37 |

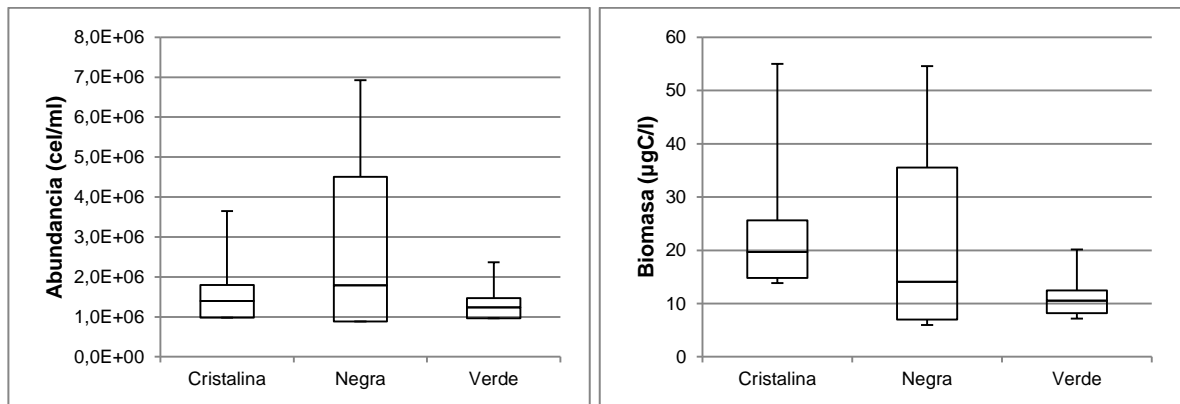


Figura 4. Las cajas indican la dispersión de los datos, las barras horizontales son los valores máximos hacia arriba y mínimos hacia abajo sobre el eje Y, la línea horizontal dentro de la caja indica el valor promedio. Izquierda abundancia (cel.ml^{-1}) bacteriana promedio y Derecha biomasa ($\mu\text{gC/l}$) bacteriana promedio.

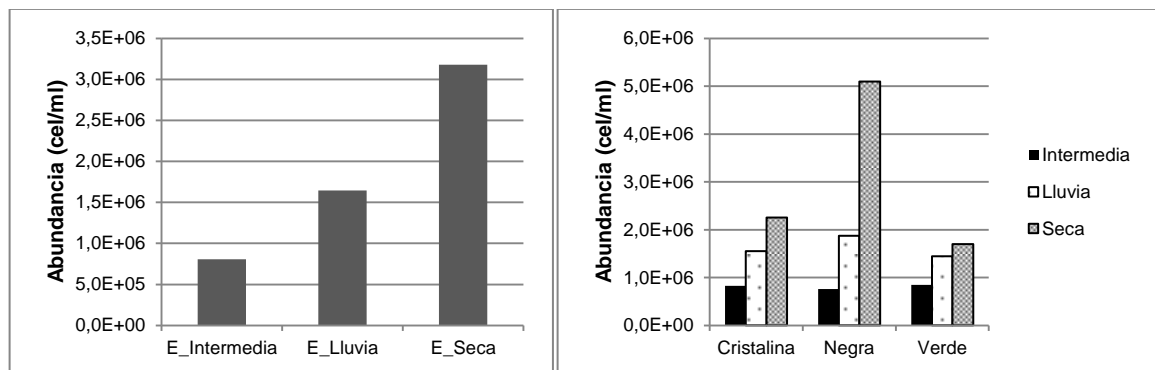


Figura 5. Promedio de la abundancia bacteriana (cel.ml^{-1}) por época climática. A la izquierda el promedio total y a la derecha los promedios por laguna.

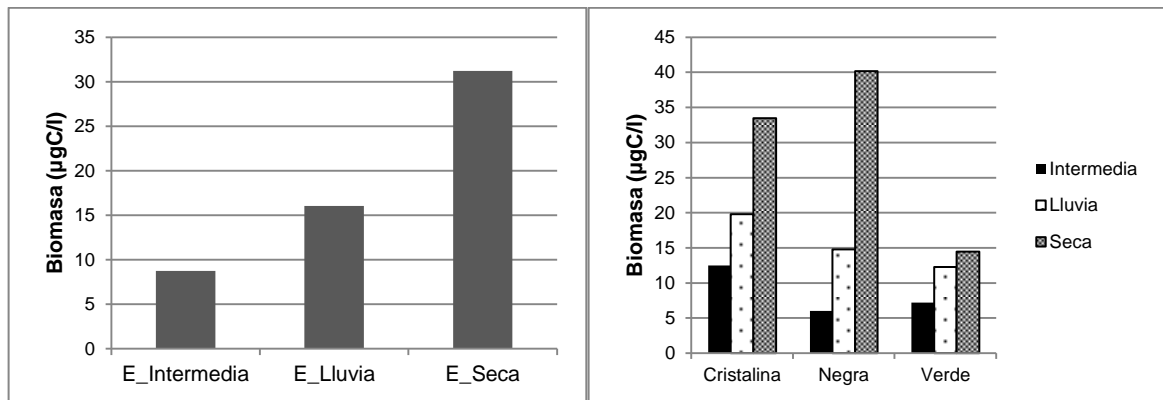


Figura 6. Promedio de la biomasa bacteriana ($\mu\text{gC/l}$) por época climática. A la izquierda el promedio total y a la derecha los promedios por laguna.

Los análisis de varianza para abundancia y biomasa bacteriana, muestran que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las profundidades (F menor que el valor crítico para F), sin embargo si hay diferencias entre lagunas y entre épocas climáticas (F mayor que el valor crítico para F) (Tablas 3, 4 y 5).

Tabla 3. Anova para las abundancias bacterianas por profundidad y época.

| ANÁLISIS DE VARIANZA | | | CRISTALINA | | | |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|---------------|--------------|------------------------|
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Profundidad | 1,60E+12 | 8 | 2,00E+11 | 0,66 | 0,72 | 2,59 |
| Época | 9,09E+12 | 2 | 4,55E+12 | 14,98 | 0,00 | 3,63 |
| Error | 4,85E+12 | 16 | 3,03E+11 | | | |
| Total | 1,55E+13 | 26 | | | | |
| ANÁLISIS DE VARIANZA | | | NEGRA | | | |
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Profundidad | 2,84E+12 | 8 | 3,55E+11 | 1,09 | 0,42 | 2,59 |
| Época | 9,10E+13 | 2 | 4,55E+13 | 139,58 | 0,00 | 3,63 |
| Error | 5,22E+12 | 16 | 3,26E+11 | | | |
| Total | 9,91E+13 | 26 | | | | |

| ANÁLISIS DE VARIANZA VERDE | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|---------------------|-----------------------------|
| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
| Profundidad | 6,13E+11 | 5 | 1,23E+11 | 0,86 | 0,54 | 3,33 |
| Época | 2,30E+12 | 2 | 1,15E+12 | 8,03 | 0,01 | 4,10 |
| Error | 1,43E+12 | 10 | 1,43E+11 | | | |
| Total | 4,34E+12 | 17 | | | | |

Tablas 4. Anova para las biomásas bacterianas por profundidad y época.

| ANÁLISIS DE VARIANZA CRISTALINA | | | | | | |
|--|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------|---------------------|-----------------------------|
| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
| Profundidad | 522,32 | 8 | 65,29 | 1,38 | 0,28 | 2,59 |
| Época | 2044,40 | 2 | 1022,20 | 21,64 | 0,00 | 3,63 |
| Error | 755,81 | 16 | 47,24 | | | |
| Total | 3322,53 | 26 | | | | |

| ANÁLISIS DE VARIANZA NEGRA | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------|---------------------|-----------------------------|
| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
| Profundidad | 176,61 | 8 | 22,08 | 1,09 | 0,42 | 2,59 |
| Época | 5652,86 | 2 | 2826,43 | 139,63 | 0,00 | 3,63 |
| Error | 323,88 | 16 | 20,24 | | | |
| Total | 6153,35 | 26 | | | | |

| ANÁLISIS DE VARIANZA VERDE | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|---------------------|-----------------------------|
| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
| Profundidad | 44,28 | 5 | 8,86 | 0,86 | 0,54 | 3,33 |
| Época | 166,09 | 2 | 83,05 | 8,03 | 0,01 | 4,10 |
| Error | 103,44 | 10 | 10,34 | | | |
| Total | 313,81 | 17 | | | | |

Tabla 5. Anova para abundancia y biomasa bacterianas entre lagunas.

| ANÁLISIS DE VARIANZA | | | ABUNDANCIA | | | |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------|----------------------|
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Entre lagunas | 2,16E+13 | 2 | 1,08E+13 | 6,25 | 0,00 | 3,13 |
| Dentro de los grupos | 1,19E+14 | 69 | 1,72E+12 | | | |
| Total | 1,41E+14 | 71 | | | | |
| ANÁLISIS DE VARIANZA | | | BIOMASA | | | |
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Entre grupos | 1331,50 | 2 | 665,75 | 4,69 | 0,01 | 3,13 |
| Dentro de los grupos | 9789,68 | 69 | 141,88 | | | |
| Total | 11121,18 | 71 | | | | |

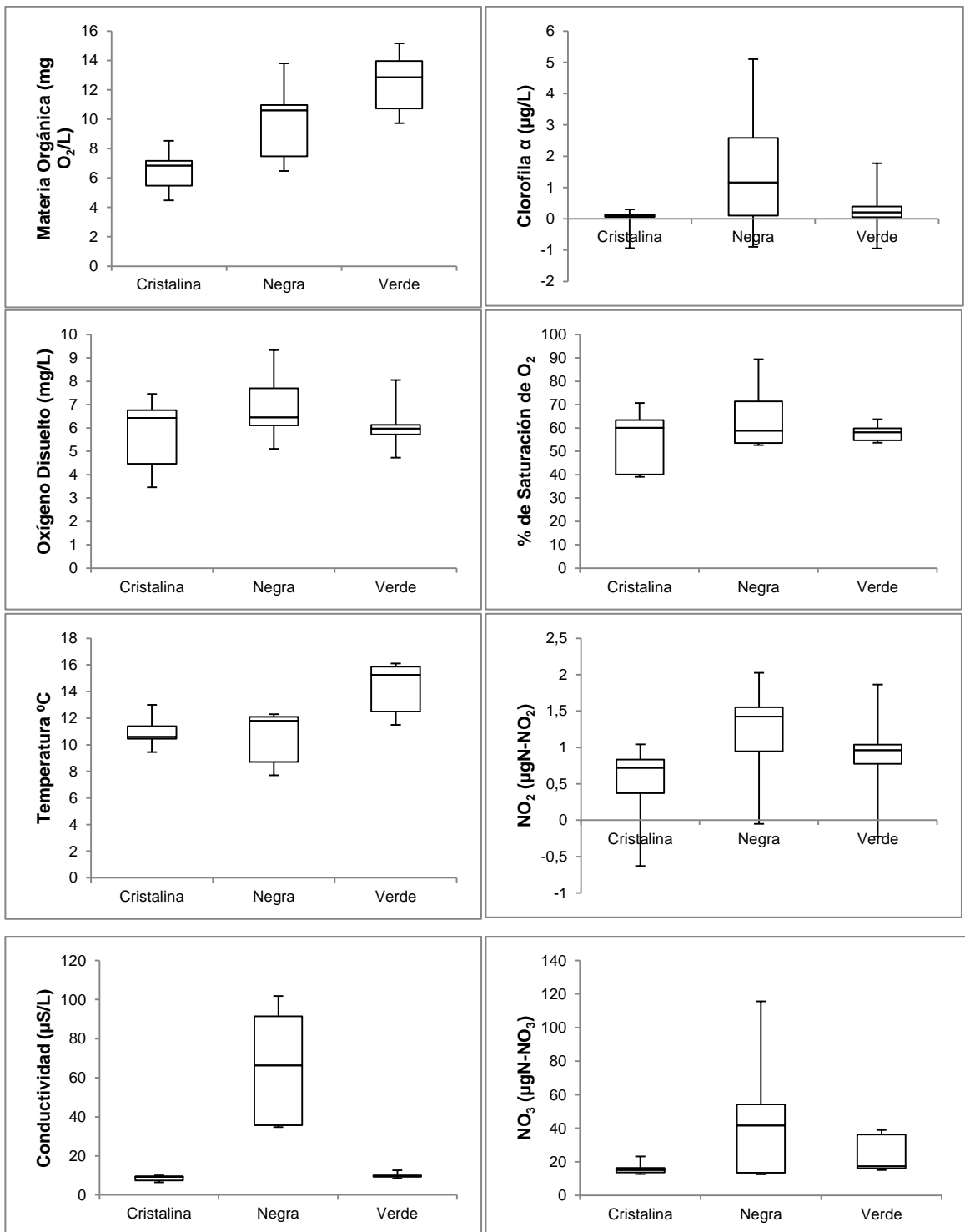
6.2 Variables Físico-químicas y concentración de clorofila α

Las variables que mejor permiten caracterizar las lagunas son el pH, la temperatura, la clorofila α y la materia orgánica (Tabla 6). Por ejemplo, el pH y la temperatura presentan valores en un rango de 4,8 – 5 y de 10 – 13,8°C, respectivamente, indicando que son lagunas ácidas y frías (excepto Laguna Negra que tiene un pH neutro). En contraste, variables como los nutrientes (PO_4 , NO_2 y NO_3), presentan valores cerca del límite de detección (Tabla 6), que categorizan a las lagunas como oligotróficas.

La laguna que presentó mayores valores de porcentaje de saturación de O₂, NO₂, NO₃, pH, Conductividad y clorofila α, fue Negra (Tabla 6, Figura 7); el oxígeno disuelto y los PO₄ fueron constantes en las tres lagunas (Figura 7). Las variables PO₄, NO₂, NO₃, temperatura, oxígeno disuelto, porcentaje de saturación de O₂, conductividad presentaron mayores valores en la época seca; la época lluvia presentó un pH más alto y mayor cantidad de materia orgánica (Figura 8).

Tabla 6. Valores promedio de las variables físico-químicas y de clorofila α. Los mayores valores de cada variable se resaltan en negrita. CV: Coeficiente de variación.

| | Cristalina | CV | Negra | CV | Verde | CV | Promedio general |
|--|-------------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|-------------------------|
| Materia orgánica mg O ₂ /L | 6,46 | 0,18 | 9,72 | 0,23 | 12,23 | 0,20 | 9,13 |
| PO₄ µg P-PO ₄ | 4,29 | 1,69 | 1,26 | 2,17 | 0 | 0 | 1,65 |
| NO₂ µg N-NO ₂ + NO₃ µg N-NO ₃ | 15,89 | 0,15 | 46,3 | 0,72 | 24,5 | 0,41 | 28,9 |
| Clorofila α µg/l | 0,111 | -0,39 | 1,585 | 1,58 | 0,304 | 20,6 | 0,712 |
| Temperatura °C | 10,92 | 0,10 | 10,70 | 0,16 | 14,54 | 0,11 | 11,74 |
| pH | 4,94 | 0,06 | 7,27 | 0,12 | 4,84 | 0,13 | 5,79 |
| OD (mg/L) | 5,87 | 0,21 | 6,92 | 0,18 | 5,91 | 0,12 | 6,27 |
| % Sat de O₂ | 54,23 | 0,23 | 63,08 | 0,23 | 57,04 | 0,08 | 58,25 |
| Conductividad (µS/L) | 8,70 | 0,12 | 65,99 | 0,41 | 9,94 | 0,11 | 30,49 |



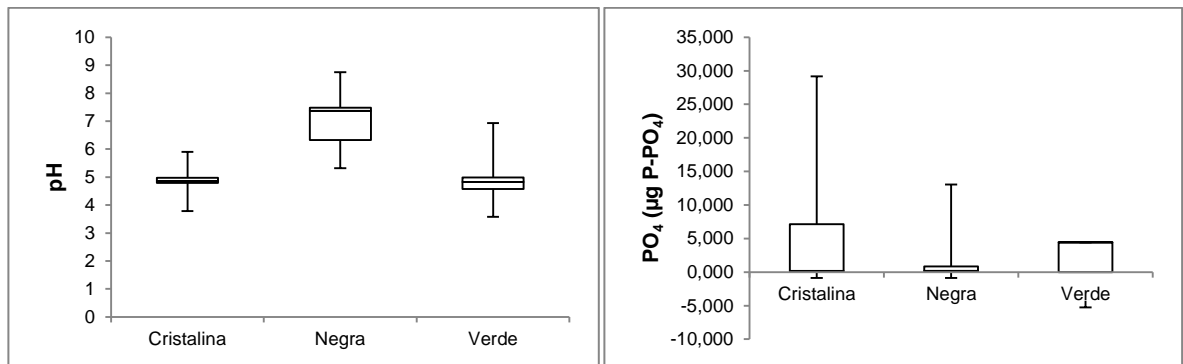


Figura 7. Resumen de los Diagramas de cajas y comparación de las principales variables entre lagunas.

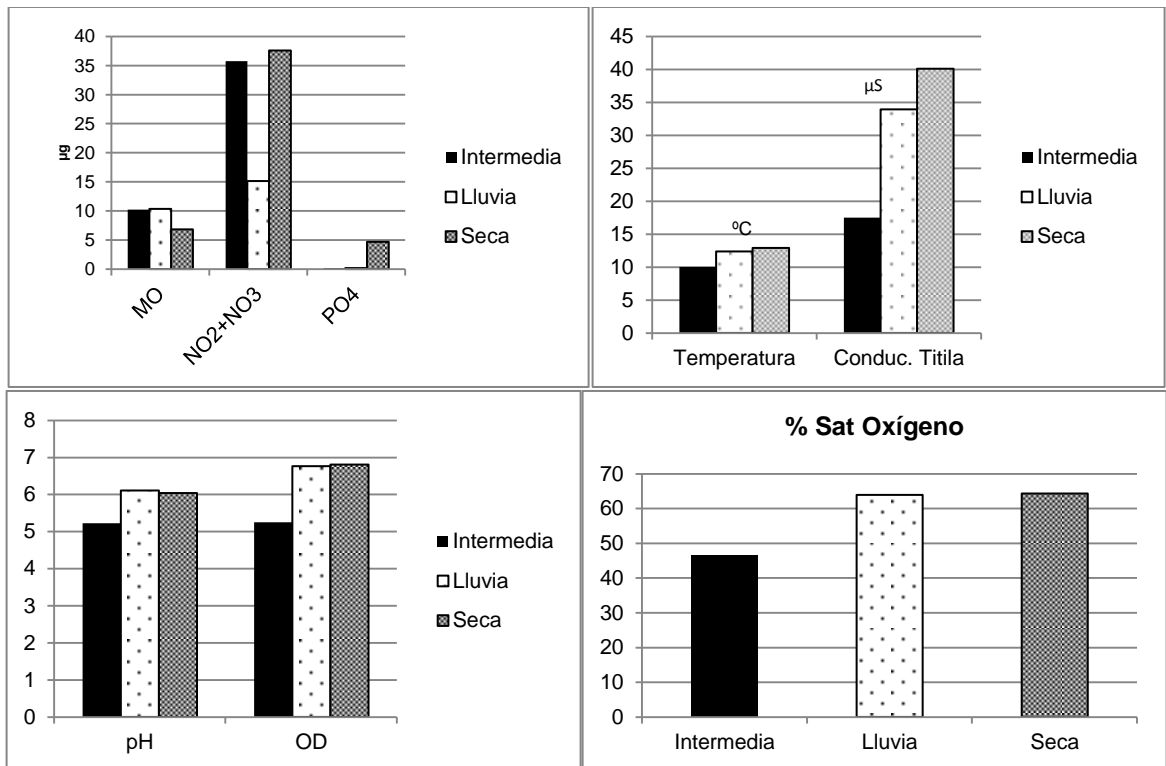


Figura 8. Valores promedio de las variables físico-químicas por época climática.

La matriz de correlación de Pearson (Tabla 6) muestra que muchas de las variables biológicas y físico-químicas están significativamente correlacionadas ($p < 0,05$). Por ejemplo la abundancia, biomasa, clorofila α , pH, conductividad y porcentaje de saturación de O_2 están correlacionadas positivamente (Figura 8), al igual que la biomasa con los fosfatos. En contraste, la biomasa se correlaciona negativamente con la materia orgánica.

Tabla 7. Matriz triangular del Coeficiente de Correlación de Pearson y los valores de p. Valor crítico 0,195 para $n=72$ con 70 grados de libertad y alfa de 0,05.

| Correlación de Pearson | | | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------|
| Variables | Abund. | Biomasa | Clorofila a | Materia Orgánica | PO4 | NO2+N O3 | % Sat O2 | pH | T °C | Conduct. |
| Abund. | | | | | | | | | | |
| Biomasa | 0,883 $p < 0,01$ | | | | | | | | | |
| Clorofila a | 0,792 $p < 0,02$ | 0,548 $p < 0,05$ | | | | | | | | |
| Materia Orgánica | -0,348 $p < 0,06$ | -0,598 $p < 0,04$ | -0,15 $p < 0,06$ | | | | | | | |
| PO4 | 0,306 $p < 0,06$ | 0,586 $p < 0,04$ | 0,035 $p < 0,07$ | -0,436 $p < 0,05$ | | | | | | |
| NO2+NO3 | -0,175 $p < 0,06$ | -0,261 $p < 0,06$ | -0,133 $p < 0,07$ | 0,250 $p < 0,06$ | -0,008 $p < 0,07$ | | | | | |
| % Sat O2 | 0,569 $p < 0,04$ | 0,462 $p < 0,05$ | 0,468 $p < 0,05$ | -0,033 $p < 0,07$ | 0,085 $p < 0,07$ | -0,177 $p < 0,06$ | | | | |
| pH | 0,578 $p < 0,04$ | 0,302 $p < 0,06$ | 0,694 $p < 0,03$ | 0,046 $p < 0,07$ | -0,032 $p < 0,07$ | -0,015 $p < 0,07$ | 0,575 $p < 0,04$ | | | |
| T °C | 0,207 $p < 0,06$ | 0,148 $p < 0,07$ | 0,134 $p < 0,07$ | 0,25 $p < 0,06$ | -0,093 $p < 0,07$ | -0,362 $p < 0,06$ | 0,352 $p < 0,06$ | -0,132 $p < 0,07$ | | |
| Conduc. | 0,671 $p < 0,04$ | 0,385 $p < 0,06$ | -0,025 $p < 0,07$ | 0,021 $p < 0,07$ | 0,014 $p < 0,07$ | -0,025 $p < 0,07$ | 0,469 $p < 0,05$ | 0,898 $p < 0,01$ | -0,116 $p < 0,07$ | |

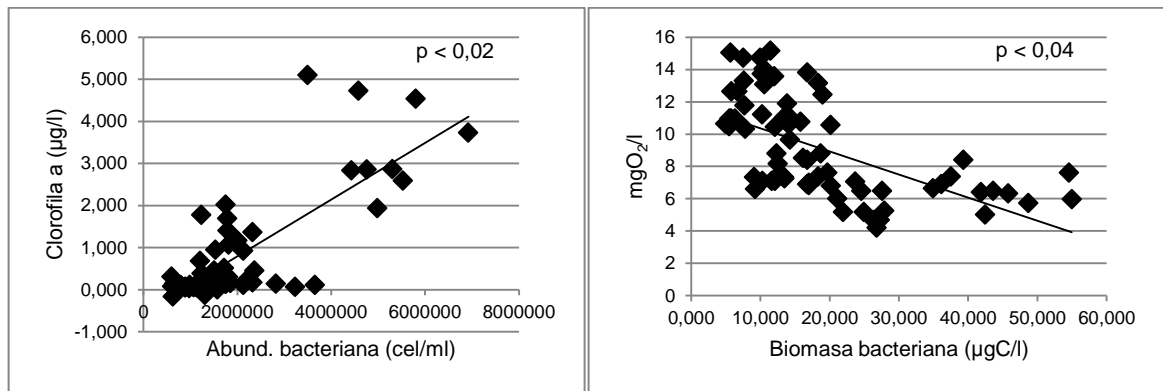


Figura 9. Izquierda correlación entre abundancia bacteriana y clorofila α . Derecha correlación entre Biomasa bacteriana y materia orgánica.

Los resultados del ACP basados en las variables biológicas y físico-químicas, se muestran en la figura 10. El eje primario está representado por la abundancia bacteriana y la clorofila α y el eje secundario por la materia orgánica y los fosfatos (Tabla 9), juntos explican el 63,6 % de la variación total del estudio (Tabla 8). Las variables tienden a separarse por ejes, en donde los PO_4 , la abundancia y la biomasa bacterianas parecen tener una relación positiva, por ende hay una correlación negativa con la materia orgánica. El ACP también revela que las muestras se agrupan por lagunas. La Laguna Cristalina tiene mayor concentración de fosfatos y biomasa bacteriana pero por el contrario presenta poca clorofila α , bajos niveles de materia orgánica y es la más fría y ácida. Por su parte, laguna Negra tiene mayores concentraciones de nitrógeno, oxígeno, clorofila α y abundancia bacteriana; es la más alcalina y de mayor temperatura y conductividad como indicador de presencia de iones. Laguna Verde, por su parte, presenta la

mayor concentración de materia orgánica, debido principalmente a sus características morfológicas y físicas.

Así mismo, el ACP deja ver que las lagunas presentan variabilidad a lo largo del estudio, exceptuando a Laguna Verde, la cual se mantiene constante entre muestreos y no presenta cambios significativos entre periodos climáticos; sin embargo, Cristalina y Negra, presentan cambios en la estructura físico-química y biológica reflejados en la distribución de las muestras en las tres épocas climáticas. Cristalina presenta cambios en sus variables estructurales en los tres muestreos, pero principalmente en época seca las muestras cambian internamente en las profundidades muestreadas. Adicionalmente en épocas de lluvia e intermedia, parece aumentar la materia orgánica reflejada en la tendencia de agrupación de las muestras hacia el primer eje. Laguna Negra revela cambios drásticos y evidentes a lo largo del año, ya que las muestras se agrupan de acuerdo a la época muestreada, en donde mientras que en época seca hay un mayor valor de variables como abundancia bacteriana, O₂, clorofila α, NO₂+NO₃, pH y conductividad, en época intermedia y lluviosa estos parecen disminuir y en contraste aumenta la materia orgánica. Lo anterior significa que cada laguna presenta características y comportamientos particulares que los diferencian de los demás.

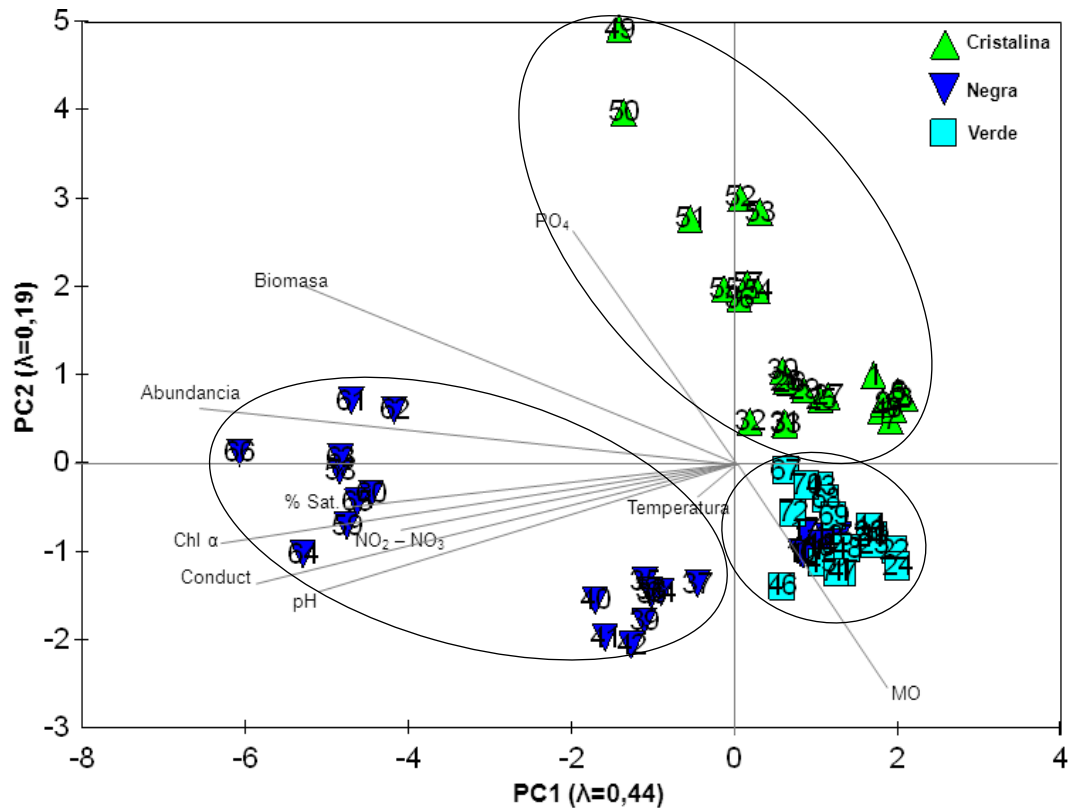


Figura 10. Análisis de componentes principales (ACP), muestra la distribución de las lagunas en relación a las variables físico-químicas, clorofila α y épocas climáticas.

Tabla 8. Componentes principales (CP), porcentaje de aporte a la variación de cada componente y porcentaje acumulado de los CP.

| CP | Eigenvalues | %Variation | Cum.%Variation |
|----|-------------|------------|----------------|
| 1 | 4,42 | 44,2 | 44,2 |
| 2 | 1,94 | 19,4 | 63,6 |
| 3 | 1,45 | 14,5 | 78,2 |
| 4 | 0,81 | 8,1 | 86,2 |
| 5 | 0,61 | 6,1 | 92,3 |

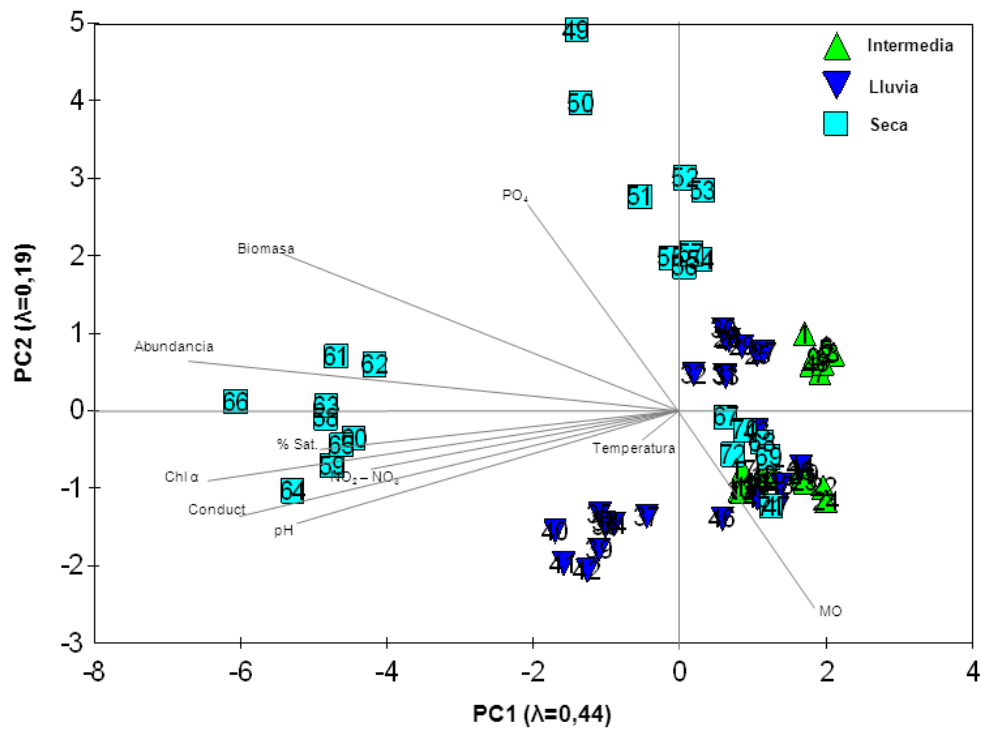


Figura 10. Análisis de componentes principales (ACP), muestra la distribución de las lagunas en relación a las variables físico-químicas, clorofila α y épocas climáticas.

Tabla 9. Aporte a la variación de cada variable en cada componente principal (CP). En negrita los mayores valores de aporte en los primeros dos componentes.

| Variable | CP1 | CP2 | CP3 | CP4 | CP5 |
|----------------------------------|---------------|---------------|--------|--------|--------|
| Abundancia | -0,442 | 0,118 | -0,125 | 0,101 | 0,147 |
| Biomasa | -0,366 | 0,408 | -0,147 | 0,018 | 0,064 |
| Materia orgánica | 0,14 | -0,556 | -0,165 | 0,208 | -0,518 |
| PO ₄ | -0,138 | 0,533 | 0,061 | 0,09 | -0,727 |
| NO ₂ +NO ₃ | -0,241 | -0,112 | 0,393 | 0,698 | -0,088 |
| Clorofila a | -0,421 | -0,15 | 0,024 | 0,161 | 0,28 |
| Temperatura | -0,038 | -0,072 | -0,745 | 0,404 | 0,065 |
| pH | -0,37 | -0,311 | 0,135 | -0,368 | -0,161 |
| % Sat de O ₂ | -0,311 | -0,101 | -0,408 | -0,337 | -0,239 |
| Conductividad | -0,402 | -0,281 | 0,194 | -0,111 | -0,066 |

7. DISCUSIÓN

Esta investigación determinó cuáles variables físico-químicas tienen mayor influencia sobre el bacterioplancton en tres lagunas altoandinas tropicales del departamento de Boyacá. Se incluyó la variable clorofila α , ya que mostró una fuerte correlación con el componente bacteriano y permitió explicar algunas de los resultados.

La caracterización bacteriana de los lagos oligotróficos se ha documentado en varios trabajos previos, en donde los bacilos son dominantes en este tipo de ecosistemas, seguidos de las formas cocoidales (Billen *et al.* 1990, Burns and Schallenberg 1996, Felip *et al.* 1999, Wille *et al.* 1999, Araújo and Godinho 2008). Similar a lo encontrado en los trabajos mencionados, en la presente investigación se encontraron formas bacilares Gram negativas en más del 70% de las colonias aisladas, posiblemente porque tienen menos posibilidades de ser depredadas, ya que según González *et al.* (1990) y Vrede (1996), en lagunas oligotróficas la presencia de ciliados bacterívoros puede disminuir la abundancia de bacterias Gram positivas, ya que estas son preferidas para su alimentación por la estructura de la pared celular. Adicionalmente, los bacilos, por su forma alargada presentan mayor área para la absorción de nutrientes, presentan mayores adaptaciones al medio y tienen una participación importante sobre los ciclo biogeoquímicos ya que algunos géneros como *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* son acumuladores

de fósforo en forma de PO_4 que es asimilado como fuente de energía para la síntesis celular; y los géneros *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* son las encargadas de fijar el nitrógeno en forma libre y transformarlo a amoníaco y/o nitratos para dejarlo disponible para las algas en el ciclo del nitrógeno (Rheinheimer 1978), lo que los hace un componente ecológico importante en el reciclaje de la materia, nutrientes y energía en la red trófica acuática (Frioni 1999).

La abundancia bacteriana promedio fue de $1877032 \text{ cel.ml}^{-1}$ ($1,88 \times 10^6 \text{ cel.ml}^{-1}$) y la biomasa fue de $18,65 \mu\text{gC.l}^{-1}$. En lagos oligotróficos de España, Nueva Zelanda y Canadá estos valores se encuentran en un promedio de $1,5 \times 10^6 \text{ cel.ml}^{-1}$ y $30 \mu\text{gC.l}^{-1}$ (Felip *et al.* 1999, Wille *et al.* 1999, Burns and Galbraith 2007, Araújo and Godinho 2008). Los valores se encuentran dentro del rango registrado para lagos oligotróficos, los cuales presentan características extremas de temperatura, pH, concentración de nutrientes, entre otros lo que provoca bajos valores de abundancia y biomasa bacteriana (Ćirić *et al.* 2012).

Las lagunas no presentaron proporcionalidad entre abundancia y biomasa, ya que Laguna Negra presentó mayor abundancia y Cristalina mayor biomasa. Esto se debe a que los tamaños bacterianos en Cristalina (biovolumen de $0,55 \mu\text{m}^3$) fueron mucho mayores que los encontrados en Negra (biovolumen de $0,22 \mu\text{m}^3$). Esta diferencia podría presentarse ya que Laguna Cristalina presentó los valores más bajos de pH y según Rheinheimer (1978) a pH ácido, las bacterias presentan alteraciones morfológicas como el aumento de tamaño y abultamientos en las

formas bacilares, lo que podría aumentar el biovolumen en esta laguna. Adicionalmente, Laguna Negra podría presentar reproducción permanente bacteriana, debido a que presenta mejores condiciones para las bacterias (concentración de nutrientes, pH, temperatura) que facilitarían su crecimiento, lo que determinaría un mayor número de bacterias con tamaños promedio más bajos (Billen *et al.* 1990). Sin embargo, un factor que no se tuvo en cuenta en este estudio y que podría ser de gran impacto es la depredación, ya que los flagelados bacterívoros prefieren comer células de mayor tamaño, lo que disminuiría su número (Fenchel 1982, Gonzalez *et al.* 1990).

Las variables ambientales tienen una fuerte influencia sobre la comunidad bacteriana. La época climática tiene un efecto sobre la variación en el nivel del agua que, a su vez, ejerce una fuerte influencia sobre la dinámica bacterioplanctónica (Anesio *et al.* 1997, Llames *et al.* 2013). De acuerdo con esto, la época seca presentó mayor abundancia y biomasa bacteriana; esto se debe a que en época de lluvia hay un efecto de dilución de los nutrientes, debido a que las lagunas presentan pequeños tamaños y tienen altas tasas de renovación provocada por el ingreso de agua baja en nutrientes. Esto hace que se disminuya la disponibilidad para ser asimilados y haya menos bacterias disponibles para que realicen la remineralizados (Anesio *et al.* 1997). En contraste, en época seca la tasa de retención de agua es más alta y los nutrientes se concentran, lo que permite un desarrollo más estable de las comunidades planctónicas. Por ende, hay un aumento en la abundancia y biomasa, no solo bacteriana, sino también

fitoplanctónica, indicada por la concentración de clorofila α , especialmente en laguna Negra (Ver figuras 6 y 7).

Paganin *et.al.* (2012) y Felip *et.al.* (1999) en sus estudios, encontraron que la riqueza, la abundancia y la biomasa bacterioplanctónica, permanecen constantes a lo largo de la columna de agua, lo cual puede indicar que se encuentran en estado estacionario de crecimiento. Concordante con esto, las muestras tomadas a diferentes profundidades no presentaron diferencias estadísticamente significativas, esto muestra que son lagunas muy homogéneas en su estructura, lo que también se refleja en sus condiciones físico-químicas.

Según Catalan *et al.* (2006) los lagos de alta montaña son usualmente oligotróficos, el crecimiento del fitoplancton es limitado, la transparencia del agua es alta, la biomasa y la abundancia bacteriana son usualmente bajas con respecto a otros lagos y no muestra fuertes cambios a lo largo del año. Los lagos de altitudes más altas tienen bajas concentraciones de nutrientes y materia orgánica, y los de pequeña área también presentan bajas alcalinidades, pH y conductividad (Noges 2009). Si el lago es profundo presenta mayor transparencia del agua, pero si es somero y pequeño presenta menor transparencia (Noges 2009).

Esta información describe y respalda la física, química y nivel trófico de las lagunas estudiadas, las cuales fueron categorizadas como oligotróficas por Herrera-Martínez (2012) en su informe técnico (datos no publicados) y explica además los bajos valores de concentración en los nutrientes, el pH, la

temperatura, la conductividad y la clorofila α . Sin embargo a pesar de presentarse el mismo patrón para las lagunas consideradas, se encontraron diferencias en las variables estudiadas por laguna como la conductividad y el pH, los cuales fueron más altos en Laguna Negra. Esta laguna presenta una cuenca mayor a las demás lagunas lo que puede aportarle nutrientes y iones que aumentarían la conductividad. Con respecto al pH, laguna Negra presenta una alta alcalinidad ($131\mu\text{Eq}$ con 146 iones HCO_3) lo que le da una capacidad tampón para adaptarse a la acidez, la cual puede provenir de los suelos típicos de páramo por proceso de escorrentía (Neal 2001). Por su parte, laguna Verde presentó mayor materia orgánica la cual proviene de sus sedimentos ya que al ser una laguna muy somera ($1,2\text{m}$ de profundidad) estos se resuspenden lo que aporta en gran medida a la materia orgánica de la Laguna. Lo anterior corrobora la hipótesis de que cada ecosistema presenta unas características particulares, producto de su ubicación geográfica, morfología, cuenca y tamaño, a pesar de ser todas lagunas altoandinas. Es así que tanto la ubicación espacial como los factores ambientales controlan la estructura bacterioplanctónica (Romina Schiaffino *et al.* 2011, Logue *et al.* 2012), razón por la cual también se presentaron diferencias en el plancton bacteriano. En Colombia, se realizó un estudio en tres ecosistemas lénticos, y aunque eran andinos, no presentaron diferencias en su abundancia bacteriana no encontraron una relación con las variables físico-químicas, lo cual es contrario a este estudio (Canosa and Pinilla 2007). Esto se debe, probablemente, a que esos lagos eran eutróficos, muy diversos y se encontraban a menor altura de los de

este estudio (2700 msnm), lo que marcaría la diferencia con la presente investigación.

La materia orgánica influye en la estructura bacteriana en ecosistemas acuáticos y en lagos oligotróficos, donde la principal fuente es alóctona (Klug 2005, Kritzberg *et al.* 2006, Burns and Galbraith 2007, Fujii *et al.* 2012). Sin embargo, se obtuvo una correlación negativa entre la biomasa bacteriana y la materia orgánica. Esta correlación se debe a que durante época de lluvia hay arrastre de materia orgánica particulada desde las laderas de los lagos, la cual no alcanza a ser metabolizada por el efecto de arrastre y dilución. En época seca la materia orgánica se precipita y en suspensión solo queda la aportada por el plancton y la que alcanza a ser resuspendida por el viento, sobre todo en las lagunas más someras, la cual puede ser metabolizada por las bacterias e invertida en el aumento de su biomasa. La relación de biomasa bacteriana: fitoplancton es relativamente más alta en ambientes oligotróficos porque las bacterias tienen mayor capacidad de adquirir los nutrientes en ambientes con concentraciones bajas de los mismos (Biddanda *et al.* 2001), por lo cual la biomasa aumenta por unidad de carbono asimilado, es decir se consume la materia orgánica. En sistemas oligotróficos las bacterias maximizan la utilización del carbono para su crecimiento aunque esta estrategia tiene un costo energético muy alto. Adicionalmente, en lagos oligotróficos las bacterias están expuestas a bajas concentraciones de carbono orgánico y nutrientes y es posible que el crecimiento se limite por estas condiciones o se estimule por otros factores (Del Giorgio *et al.*

1997, Guillemette and del Giorgio 2012). Se debe tener en cuenta que en estos ecosistemas el aporte de COD es principalmente autóctono, ya que en las laderas de las lagunas es poca la materia orgánica que pueda ser arrastrada, por lo tanto al haber pocos organismos planctónicos, es poca la disponibilidad de COD que puedan ser consumidos por las bacterias.

EL ACP muestra una relación positiva entre PO_4 con la biomasa y la abundancia, lo que indica que cuando aumenta el fósforo la biomasa también lo hace. En lagos oligotróficos la asimilación del fósforo por parte de las bacterias es del 80 al 90% del total de la asimilación. A medida que aumenta el estado trófico, esta asimilación empieza a disminuir en un 10 al 20% por parte de las bacterias y empieza la asimilación por parte del fitoplancton (Boulion 2012). Esto prueba la dominancia del flujo de fósforo a través de organismos microbianos en lagos oligotróficos (Boulion 2012); por lo tanto el fósforo es un nutriente limitante de la abundancia y biomasa bacteriana (Spears and Lesack 2006, Pulido-Villena *et al.* 2008, Romina Schiaffino *et al.* 2011, Rodríguez *et al.* 2013). Además, cuando hay deficiencia de carbono el fósforo podría ser una alternativa (Currie and Kalff 1984). Las bacterias han mostrado que pueden dominar la absorción de fósforo inorgánico en sistemas deficientes en fósforo, lo que indica que es el fósforo, más que el carbono orgánico, el limitante del crecimiento del bacterioplancton; esto sugiere competencia directa entre el fitoplancton y las bacterias por el fósforo inorgánico (Coveney and Wetzel 1992). Esta podría ser la explicación a la correlación que se presentó entre los fosfatos y la abundancia y biomasa

bacterianas, en donde al presentarse limitación por materia orgánica, y en general de todos los nutrientes, las bacterias utilizan el fósforo como fuente de energía para realizar sus procesos metabólicos y utilizar la poca materia orgánica disponible, lo que concuerda con resultados previos como los de Currie (1990), Vrede (1996) y Vrede *et al.*(1999).

La temperatura en las tres lagunas no presentó cambios significativos en las tres épocas muestreadas, debido principalmente a que en el trópico no se presentan variaciones drásticas en la temperatura ya que no hay cambios estacionales como en otras latitudes. Esto hizo que no se presentara una correlación entre el plancton bacteriano y la temperatura, a pesar de que la literatura confirme que la estructura bacteriana depende fuertemente de las fluctuaciones en la temperatura que se presenten a lo largo del ciclo anual. Sin embargo, los estudios realizados en el tema han sido en ecosistemas que presentan las cuatro estaciones en donde una parte del año el agua del lago se congela y cambia el comportamiento biótico y las condiciones físico-químicas del lago (Abarzúa *et al.* 1995, Hinder *et al.* 1999, Araújo and Godinho 2008, Boteva *et al.* 2010), lo que marca la diferencia con el presente estudio.

Relación Bacterias – Clorofila α

El 30% del material excretado por el fitoplancton se recircula a través de la vía bacterias heterotróficas (Iturriaga and Zsolnay 1983) y el 50% de la productividad bacteriana se basa en productos provenientes de las algas (Nalewajko and Lean

1972, Williams 1981, Azam *et al.* 1983, Iturriaga and Zsolnay 1983, Coveney and Wetzel 1995). Por lo tanto, los estudios han demostrado una fuerte correlación entre las bacterias y el fitoplancton (Nalewajko and Lean 1972, Azam *et al.* 1983, Iturriaga and Zsolnay 1983, Jones *et al.* 1983, Bird and Kalff 1984, Malone and Ducklow 1990, Sundh 1992, Abarzúa *et al.* 1995, Coveney and Wetzel 1995, Anesio *et al.* 1997, Brett *et al.* 1999, Hinder *et al.* 1999, Castillo 2000), debido principalmente a dos factores: 1. El control basado en el recurso, a través de la dependencia que tienen las bacterias por el carbono que liberan las algas y 2. El control depredatorio, ya que las bacterias pueden ser presa para los mixotrófos; sin embargo se cree que solo el primero se presenta en lagos oligotróficos y el segundo en lagos eutróficos, lo cual sería beneficioso en lagos de alta montaña ya que aumentaría la eficiencia en la transferencia de energía (Medina-Sánchez *et al.* 2004). Esta síntesis respalda la alta correlación presentada en este estudio entre la abundancia bacteriana y la clorofila α y conlleva a incluir esta variable en el estudio, ya que es uno de los factores de mayor peso para explicar el primer eje del ACP y en consecuencia, para entender en buena medida el comportamiento bacteriano en estas lagunas.

Esta relación fue consistente en las tres épocas climáticas, lo cual puede explicarse porque en época seca el crecimiento bacteriano podría conducirse principalmente por el carbono orgánico disuelto de origen fitoplanctónico utilizado como fuente de energía (Anesio *et al.* 1997, Castillo 2000).

Al igual que con el bacterioplancton, la concentración de clorofila α presentó correlación con los fosfatos, dependencia que también se ha observado en otros estudios como los de Brett *et al.* (1999), Vrede (1996) y Vrede *et al.* (1999). Esta relación fue más evidente en Laguna Negra, donde hubo una mayor concentración de clorofila α , especialmente en época seca, al igual que de fosfatos. Hay dos posibles explicaciones: por un lado se puede decir que el fito y el bacterioplancton son estimulados por el mismo nutriente, en donde se presentaría competencia por el fósforo; por el otro, que hay un estímulo en el crecimiento dado por la relación misma entre fito y bacterias en donde al aumentar la biomasa fitoplanctónica aumentaría el aporte de nutrientes a las bacterias. Sin embargo esto no puede ser concluyente, ya que hay otras variables que pueden estimular este crecimiento como la disponibilidad de carbono, la temperatura, los depredadores y la luz (Brett *et al.* 1999).

En resumen, esta relación es benéfica para las lagunas altoandinas oligotróficas, ya que las bacterias transforman los exudados de sustancias orgánicas del fitoplancton activo y la oferta de carbono proveniente del fitoplancton muerto, a formas más fáciles de utilizar por otros organismos heterotróficos, dando una continuidad al flujo del carbono en el ambiente acuático (Malone and Ducklow 1990, Sundh 1992).

8. CONCLUSIONES

1. Como se planteó en la hipótesis, la biomasa y la abundancia bacteriana en las lagunas oligotróficas estudiadas están relacionadas con los nutrientes y la materia orgánica, los cuales, a su vez, dependen del ciclo anual de lluvias y sequía.
2. La biomasa y abundancia bacteriana tienden a aumentar en época seca por un aumento de la biomasa fitoplanctónica, medida a través de la concentración de clorofila α , que está correlacionada a su vez con el incremento en la concentración de nutrientes y la conductividad.
3. Los resultados indican que es más importante la concentración de ortofosfato que la concentración total de materia orgánica para el aumento de la biomasa bacteriana, debido a que posiblemente las bacterias aprovechan eficientemente el incremento de las concentraciones de este nutriente para incorporarlo como fuente de energía.
4. Se presentaron diferencias entre las lagunas estudiadas en las variables medidas, lo que muestra un claro comportamiento específico de cada ecosistema.
5. La fuente de carbono orgánico disuelto en las lagunas de estudio es autóctona, proveniente principalmente del fitoplancton y las macrófitas durante su fase vegetativa y senescencia, al encontrarse estos en bajas cantidades, la abundancia y la biomasa bacteriana son bajas lo que provoca un control “bottom up” sobre la red trófica.

9. RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis de la composición bacteriana en las lagunas, ya que al parecer los nutrientes regulan más a unas especies que a otras.
2. Evaluar otras variables biológicas como el nanoplancton, el zooplancton y las algas mixotróficas, simultáneamente, ya que al parecer la depredación es un factor importante sobre el bacterioplancton.
3. Evaluar la fuente de la materia orgánica de las lagunas y el flujo del carbono en estos ecosistemas.
4. Evitar la contaminación de las lagunas y su cuenca, ya que estos ecosistemas funcionan como reservorios de agua natural y por sus características como bajo pH, concentraciones mínimas de nutrientes, alta transparencia, los hace ser ecosistemas sensibles a la contaminación y a los cambios de uso de la tierra.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abarzúa, M., S. Basualto, and H. Urrutia. 1995. Relación entre la abundancia y biomasa de fitoplancton y bacterioplancton heterotrófico en aguas superficiales del Golfo de Arauco, Chile. *Investigaciones Marinas, Valparaíso* **23**:67-74.
- American Public Health Association. 1999. Standard methods for the examination of water and wastewater. Lenore S. Clescerl, Arnold E. Greenberg, Andrew D. Eaton edition, Washington, DC.
- Anesio, A. M., P. C. Abreu, and F. de Assis Esteves. 1997. Influence of the Hydrological Cycle on the Bacterioplankton of an Impacted Clear Water Amazonian Lake. *Microbial Ecology* **34**:66-73.
- Araújo, M. F. F. d. and M. J. L. Godinho. 2008. Seasonal and spatial distribution of Bacterioplankton in a fluvial-lagunar system of a tropical region: density, biomass, cellular volume and morphologic variation. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **51**:203-212.
- Azam, F., T. Fenchel, J. Field, J. Gray, L. Meyer-Reil, and F. Thingstad. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine ecology progress series. Oldendorf* **10**:257-263.
- Baines, S. B. and M. L. Pace. 1991. The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: patterns across marine and freshwater systems. *Limnology and Oceanography*:1078-1090.

- Barragán, R., A. Canosa, and J. P. Niño. 2009. Bacterioplancton en Bahía Gaira, mar Caribe (Colombia): comparación de la variabilidad en abundancia y biomasa bacteriana durante diferentes períodos. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* **38**:75-90.
- Belgrano, A., U. M. Scharler, J. Dunne, and R. E. Ulanowicz. 2005. *Aquatic Food Webs, An Ecosystem Approach*. Belgrano, Andrea, Scharler, Ursula M. Dunne, Jennifer Ulanowicz, Robert E. edition, United States.
- Bertoni, R., C. Callieri, and A. Pugnetti. 1998. Dinamica del carbonio organico nel Lago di Cadagno e attività microbiche nel mixolimnio. *Documenta dell'Istituto Italiano di Idrobiologia* **63**:105-120.
- Biddanda, B., M. Ogdahl, and J. Cotner. 2001. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnology and Oceanography* **46**:730-739.
- Billen, G., P. Servais, and S. Becquevort. 1990. Dynamics of bacterioplankton in oligotrophic and eutrophic aquatic environments: bottom-up or top-down control? *Hydrobiologia* **207**:37-42.
- Bird, D. F. and J. Kalff. 1984. Empirical Relationships between Bacterial Abundance and Chlorophyll Concentration in Fresh and Marine Waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **41**:1015-1023.
- Bjornsen, P. and J. Kuparinen. 1991. Determination of bacterioplankton biomass, net production and growth efficiency in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series* **71**:185-194.

- Bjornsen, P. K. 1986. Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis. *Applied and Environmental Microbiology* **51**:1199-1204.
- Boteva, S., I. Traykov, A. Kenarova, and V. Bogoev. 2010. Abundance and spatial dynamics of bacterioplankton in the Seven Rila Lakes, Bulgaria. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* **28**:451-458.
- Boulion, V. 2012. Assimilation and turnover time of phosphorus by size fractions of microplankton in lakes of different types. *Inland water biology* **5**:304-309.
- Brett, M. T., F. S. Lubnow, M. Villar-Argaiz, A. Müller-Solger, and C. R. Goldman. 1999. Nutrient control of bacterioplankton and phytoplankton dynamics. *Aquatic Ecology* **33**:135-145.
- Brönmark, C. and L.-A. Hansson. 2005. *The biology of lakes and Ponds*. Oxford University Press Inc. edition, New York.
- Burns, C. W. and L. M. Galbraith. 2007. Relating planktonic microbial food web structure in lentic freshwater ecosystems to water quality and land use. *Journal of plankton research* **29**:127-139.
- Burns, C. W. and M. Schallenberg. 1996. Relative impacts of copepods, cladocerans and nutrients on the microbial food web of a mesotrophic lake. *Journal of plankton research* **18**:683-714.
- Burns, C. W. and M. Schallenberg. 1998. Impacts of nutrients and zooplankton on the microbial food web of an ultra-oligotrophic lake. *Journal of plankton research* **20**:1501-1525.

- Callieri, C. and R. Bertoni. 1999. Organic carbon and microbial food web assemblages in an oligotrophic alpine lake. *Journal of Limnology* **58**:136-143.
- Canosa, A. and G. Pinilla. 2001. Total bacterial populations in three lentic water bodies of the Colombian Andes using the epifluorescence technique. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* **6**:169-174.
- Canosa, A. and G. Pinilla. 2007. Relaciones entre las abundancias del bacterioplancton y del fitoplancton en tres ecosistemas lénticos de los Andes Colombianos. *Revista de Biología Tropical* **55**:135-146.
- Caraballo-Gracia, P. R. 2010. O papel da alça microbiana na dinâmica trófica de um lago de várzea na Amazônia central. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus - Amazonas.
- Caraballo, P. 2009. Uso de isótopos estables de carbono y nitrógeno para estudios de ecología acuática. *Boletín Científico CIOH* **27**:176-187.
- Carpenter, S. R., J. F. Kitchell, and J. R. Hodgson. 1985. Cascading trophic interactions and lake productivity. *Bioscience* **35**:634-639.
- Castillo, M. M. 2000. Influence of hydrological seasonality on bacterioplankton in two neotropical floodplain lakes. *Hydrobiologia* **437**:57-69.
- Catalan, J., L. Camarero, M. Felip, S. Pla, M. Ventura, T. Buchaca, F. Bartumeus, G. de Mendoza, A. Miró, and E. O. Casamayor. 2006. High mountain lakes: extreme habitats and witnesses of environmental changes. *Limnetica* **25**:551-584.

- Ćirić, S., B. Milošević, Z. Spasić, J. Knežević, and S. Anđelković. 2012. Seasonal and Vertical Distributions of Bacterioplankton in Lake Ćelije, Serbia. University of Priština, Republic of Macedonia.
- Cole, J. J. 1999. Aquatic Microbiology for Ecosystem Scientists: New and Recycled Paradigms in Ecological Microbiology. *Ecosystems* **2**:215-225.
- Cole, J. J., S. Findlay, and M. L. Pace. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: A cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series* **43**:1-10.
- Cole, J. J., M. L. Pace, N. F. Caraco, and G. S. Steinhart. 1993. Bacterial biomass and cell size distributions in lakes: More and larger cells in anoxic waters. *Limnology and Oceanography*:1627-1632.
- Coveney, M. F. and R. G. Wetzel. 1992. Effects of nutrients on specific growth rate of bacterioplankton in oligotrophic lake water cultures. *Applied and Environmental Microbiology* **58**:150-156.
- Coveney, M. F. and R. G. Wetzel. 1995. Biomass, production, and specific growth rate of bacterioplankton and coupling to phytoplankton in an oligotrophic lake. *Limnology and Oceanography*:1187-1200.
- Covich, A. P. 2006. Protección de la biodiversidad del bentos para asegurar procesamiento de materia orgánica y servicios del ecosistema: Importancia de los invertebrados fragmentadores de redes de drenaje. *ECOTROPICOS* **19**:109-127.

- Currie, D. J. 1990. Large-scale variability and interactions among phytoplankton, bacterioplankton, and phosphorus. *Limnology and Oceanography* **35**:1437-1455.
- Currie, D. J. and J. Kalff. 1984. A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. *Limnology and Oceanography*:298-310.
- Del Giorgio, P. A., J. J. Cole, and A. Cimleris. 1997. Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. *Nature* **385**:148-151.
- Dufour, P. and J. P. Torréton. 1996. Bottom-up and top-down control of bacterioplankton from eutrophic to oligotrophic sites in the tropical northeastern Atlantic Ocean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* **43**:1305-1320.
- Elser, J., T. Chrzanowski, R. Sterner, J. Schampel, and D. Foster. 1995. Elemental ratios and the uptake and release of nutrients by phytoplankton and bacteria in three lakes of the Canadian Shield. *Microbial Ecology* **29**:145-162.
- Felip, M., F. Bartumeus, S. Halac, and J. Catalan. 1999. Microbial plankton assemblages, composition and biomass, during two ice-free periods in a deep high mountain lake (Estany Redó, Pyrenees). *Journal of Limnology* **58**:193-202.
- Fenchel, T. 1982. Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. *Marine Ecology Progress Series* **9**:35.

- Fenchel, T. 2008. The microbial loop - 25 years later. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **366**:99-103.
- Frioni, L. 1999. Procesos microbianos. Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Fujii, M., H. Kojima, T. Iwata, J. Urabe, and M. Fukui. 2012. Dissolved Organic Carbon as Major Environmental Factor Affecting Bacterioplankton Communities in Mountain Lakes of Eastern Japan. *Microbial Ecology* **63**:496-508.
- Gocke, K., C. Hernández, H. Giesenhagen, and H. G. Hoppe. 2004. Seasonal variations of bacterial abundance and biomass and their relation to phytoplankton in the hypertrophic tropical lagoon Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *Journal of plankton research* **26**:1429-1439.
- Gonzalez, J. M., E. B. Sherr, and B. F. Sherr. 1990. Size-selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. *Applied and Environmental Microbiology* **56**:583-589.
- Guillemette, F. and P. A. del Giorgio. 2012. Simultaneous consumption and production of fluorescent dissolved organic matter by lake bacterioplankton. *Environmental Microbiology* **14**:1432-1443.
- Hadas, O., R. Pinkas, C. Albert-Diez, J. Bloem, T. Cappenberg, and T. Berman. 1990. The effect of detrital addition on the development of nanoflagellates and bacteria in Lake Kinneret. *Journal of plankton research* **12**:185-199.

- Herrera-Martínez, Y. 2012. Estudio ecológico de las comunidades hidrobiológicas en humedales altoandinos de la Cordillera Oriental de Colombia. Pages 1-109. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia.
- Hinder, B., I. Baur, K. Hanselmann, and F. Schanz. 1999. Microbial food web in an oligotrophic high mountain lake (Jori Lake III. Switzerland). *Journal of Limnology* **58**:162-168.
- Hobbie, J. E., R. J. Daley, and S. Jasper. 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology* **33**:1225-1228.
- Hodgson, J. Y. S. 2005. A trophic cascade synthesis: review of top-down mechanisms regulating lake ecosystems. *BIOS* **76**:137-144.
- Iturriaga, R. and A. Zsolnay. 1983. Heterotrophic uptake and transformation of phytoplankton extracellular products. *Botanica Marina* **26**:375-382.
- Jones, J., B. Simon, and C. Cunningham. 1983. Bacterial uptake of algal extracellular products: An experimental approach. *Journal of Applied Microbiology* **54**:355-365.
- Kepner Jr, R. L. and J. R. Pratt. 1994. Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental samples: past and present. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **58**:603-615.
- Kerner, M., H. Hohenberg, S. Ertl, M. Reckermann, and A. Spitzky. 2003. Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. *Nature* **422**:150-154.

- Kirchman, D. 1994. The uptake of inorganic nutrients by heterotrophic bacteria. *Microbial Ecology* **28**:255-271.
- Klug, J. L. 2005. Bacterial response to dissolved organic matter affects resource availability for algae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **62**:472-481.
- Kritzberg, E. S., S. Langenheder, and E. S. Lindström. 2006. Influence of dissolved organic matter source on lake bacterioplankton structure and function—implications for seasonal dynamics of community composition. *FEMS microbiology ecology* **56**:406-417.
- Lindeman, R. L. 1942. The Trophic-Dynamic Aspect of Ecology. *Ecology* **23**:399-417.
- Lindström, E. S. 2000. Bacterioplankton community composition in five lakes differing in trophic status and humic content. *Microbial Ecology* **40**:104-113.
- Logue, J. B., S. Langenheder, A. F. Andersson, S. Bertilsson, S. Drakare, A. Lanzén, and E. S. Lindström. 2012. Freshwater bacterioplankton richness in oligotrophic lakes depends on nutrient availability rather than on species–area relationships. *The ISME Journal* **6**:1127-1136.
- Llames, M. E., P. A. del Giorgio, H. Zagarese, M. Ferraro, and I. Izaguirre. 2013. Alternative states drive the patterns in the bacterioplankton composition in shallow Pampean lakes (Argentina). *Environmental Microbiology Reports* **5**:310-321.

- Malone, T. C. and H. W. Ducklow. 1990. Microbial biomass in the coastal plume of Chesapeake Bay: Phytoplankton-bacterioplankton relationships. *Limnology and Oceanography* **35**:296-312.
- McKnight, D. M., R. Harnish, R. L. Wershaw, J. S. Baron, and S. Schiff. 1997. Chemical Characteristics of Particulate, Colloidal, and Dissolved Organic Material in Loch Vale Watershed, Rocky Mountain National Park. *Biogeochemistry* **36**:99-124.
- Medina-Sánchez, J. M., M. Villar-Argaiz, and P. Carrillo. 2004. Neither with nor without you: A complex algal control on bacterioplankton in a high mountain lake. *Limnology and Oceanography* **49**:1722-1733.
- Morales, M., J. Otero, T. V. d. Hammen, A. Torres, C. Cadena, C. Pedraza, N. Rodríguez, C. Franco, J. C. Betancourth, É. Olaya, E. Posada, and L. Cárdenas. 2007. Atlas de páramos de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt edition, Bogotá, D.C.
- Morris, D. P. and W. M. Lewis Jr. 1992. Nutrient limitation of bacterioplankton growth in Lake Dillon, Colorado. *Limnology and Oceanography* **37(6)**:1179-1192.
- Muylaert, K., K. Van der Gucht, N. Vloemans, L. D. Meester, M. Gillis, and W. Vyverman. 2002. Relationship between bacterial community composition and bottom-up versus top-down variables in four eutrophic shallow lakes. *Applied and Environmental Microbiology* **68**:4740-4750.
- Nalewajko, C. and D. Lean. 1972. Growth and excretion in planktonic algae and bacteria. *Journal of Phycology* **8**:361-366.

- Neal, C. o. 2001. Alkalinity measurements within natural waters: towards a standardised approach. *Science of the Total Environment*, The **265**:99-113.
- Noges, T. 2009. Relationships between morphometry, geographic location and water quality parameters of European lakes. *Hydrobiologia* **633**:33-43.
- Norland, S. 1993. The relationship between biomass and volume of bacteria Pages 303–307 *in* P. Kemp, B. Sherr, E. Sherr, and J. J. Cole, editors. *Aquatic Microbial Ecology*, Boca Raton.
- Nusch, E. A. 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archiv fur Hydrobiologie Beih Ergebn Limnology* **14**:14-36.
- Pace, M. and J. Cole. 1994. Comparative and experimental approaches to top-down and bottom-up regulation of bacteria. *Microbial Ecology* **28**:181-193.
- Paganin, P., L. Chiarini, A. Bevivino, C. Dalmastri, A. Farcomeni, G. Izzo, A. Signorini, C. Varrone, and S. Tabacchioni. 2012. Vertical distribution of bacterioplankton in Lake Averno in relation to water chemistry. *FEMS microbiology ecology* **84**:176-188.
- Pinilla, G. A., A. Canosa, A. Vargas, M. Gavilán, and L. López. 2007. Acoplamiento entre las comunidades planctónicas de un lago amazónico de aguas claras (lago Boa, Colombia). *Limnetica* **26**:53-65.
- Pomeroy, L. R. 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience* **24**:499-504.
- Pomeroy, L. R. and C. Darwin. 2007. The microbial loop. *Oceanography* **20**:28-33.

- Posch, T., M. Loferer-Krößbacher, G. Gao, A. Alfreider, J. Pernthaler, and R. Psenner. 2001. Precision of bacterioplankton biomass determination: a comparison of two fluorescent dyes, and of allometric and linear volume-to-carbon conversion factors. *Aquatic Microbial Ecology* **25**:55-63.
- Pulido-Villena, E., I. Reche, and R. Morales-Baquero. 2008. Evidence of an atmospheric forcing on bacterioplankton and phytoplankton dynamics in a high mountain lake. *Aquatic Sciences-Research Across Boundaries* **70**:1-9.
- Reche, I. 1997. Efectos de la disponibilidad de Carbono Orgánico Fotodegradado y de Nutrientes Minerales sobre la Abundancia de bacterias activas. *Limnetica* **13**:79-85.
- Rejas, D., K. Muylaert, and L. De Meester. 2002. Primeros datos sobre la comunidad microbiana en una laguna de várzea en la Amazonía Boliviana (Laguna Bufeos, Cochabamba). *Ecología en Bolivia* **37**:51-63.
- Rheinheimer, G. 1978. *Microbiología de Aguas*, España.
- Rodier, J., C. Geoffray, G. Kovacsik, J. Laporte, M. Plissier, J. Scheidhauer, J. Verneaux, and J. Vial. 1990. *Análisis de las aguas*. Omega edition, Barcelona.
- Rodríguez, P., J. Ask, C. L. Hein, M. Jansson, and J. Karlsson. 2013. Benthic organic carbon release stimulates bacterioplankton production in a clear-water subarctic lake. *Freshwater Science* **32**:176-182.
- Roldan-Pérez, G. 1992. *Fundamentos de Limnología Neotropical*. Editorial Universidad de Antioquia edition, Medellín, Colombia.

- Romina Schiaffino, M., F. Unrein, J. M. Gasol, R. Massana, V. BalaguÉ, and I. Izaguirre. 2011. Bacterial community structure in a latitudinal gradient of lakes: the roles of spatial versus environmental factors. *Freshwater Biology* **56**:1973-1991.
- Salonen, K., J. Keskitalo, and L. Arvola. 1994. Effect of rapid pH changes on phyto- and bacterioplankton of clear and humic waters *Archiv fur Hydrobiologie* **129**:425-441.
- Sartory, D. and J. Grobbelaar. 1984. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia* **114**:177-187.
- Shiah, F. K. and H. W. Ducklow. 1994. Temperature and substrate regulation of bacterial abundance, production and specific growth rate in Chesapeake Bay, USA. *Marine Ecology-Progress Series* **103**:297-297.
- Spears, B. M. and L. F. W. Lesack. 2006. Bacterioplankton production, abundance, and nutrient limitation among lakes of the Mackenzie Delta (western Canadian arctic). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **63**:845-857.
- Sundh, I. 1992. Biochemical Composition of Dissolved Organic Carbon Derived from Phytoplankton and Used by Heterotrophic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **58**:2938-2947.
- Vrede, K. 1996. Regulation of bacterioplankton production and biomass in an oligotrophic cleanwater lake—the importance of the phytoplankton community. *Journal of plankton research* **18**:1009-1032.

- Vrede, K., T. Vrede, A. Isaksson, and A. Karlsson. 1999. Effects of nutrients (phosphorous, nitrogen, and carbon) and zooplankton on bacterioplankton and phytoplankton-a seasonal study. *Limnology and Oceanography* **44**:1616-1624.
- Wetzel, R. G. 1983. *Limnology*. Saunders.
- White, P. A., J. Kalff, J. B. Rasmussen, and J. M. Gasol. 1991. The effect of temperature and algal biomass on bacterial production and specific growth rate in freshwater and marine habitats. *Microbial Ecology* **21**:99-118.
- Wille, A., B. Sonntag, B. Sattler, and R. Psenner. 1999. Abundance, biomass and size-structure of the microbial assemblage in the high mountain lake Gossenkollesee (Tyrol, Austria) during the ice-free period. *Journal of Limnology* **58**:117-126.
- Williams, P. I. B. 1981. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the plankton food web. Pages 1-28 *in* G. e. a. Rheinheimer, editor. *Lower Organisms and their Role in the Food Web: Proceedings of the 15th European Marine Biology Symposium, Kiel, Damp 2000, Federal Republic of Germany (September 29-October 3, 1980)*. Kieler Meeresforschungen.
- Work, K., K. Havens, B. Sharfstein, and T. East. 2005. How important is bacterial carbon to planktonic grazers in a turbid, subtropical lake? *Journal of plankton research* **27**:357-372.

Wright, R. T., R. B. Coffin, and M. E. Lebo. 1987. Dynamics of planktonic bacteria and heterotrophic microflagellates in the Parker Estuary, northern Massachusetts. *Continental shelf research* 7:1383-1397.