

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA



Trabajo dirigido para optar al grado de Licenciatura

Análisis preliminar de bacterias halófilas en sedimentos de lagunas del Altiplano Boliviano con diferente salinidad como posibles bio-indicadores de cambio climático.

Universitario: ADRIANA DANIELA
TRUJILLO YERIOMENKO

Tutor: Ph. D. DARÍO ACHÁ

La Paz – Bolivia
2023

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE BIOLOGÍA

Análisis preliminar de bacterias halófilas en sedimentos de lagunas del Altiplano Boliviano con diferente salinidad como posibles bio-indicadores de cambio climático.

Por: Adriana Daniela Trujillo Yeriomenko

Tutor:

Darío Achá Ph. D.

Tribunal:

Carolina Cuña Ph. D.

Carlos Molina Ph. D.

Director de carrera:

M. Sc. Winder Canezo

La Paz – Bolivia, 2023

DEDICATORIA

A mis amados padres, Valentina y Ramiro, por todo el esfuerzo que pusieron para darme las oportunidades que me dieron, por nunca perder la fe en mí, por apoyarme en cada paso que doy y por su infinito amor.

A mi hermano Maxim, por ponerme los pies sobre la tierra, por sus sabias palabras y por nunca dejarme desfallecer.

A mi tutor, Darío Achá, por ser mi guía y mentor, que me motivó y apoyó durante todo este proceso.

A mis tribunales Carolina Cuña y Carlos Molina, por su paciencia, predisposición y apoyo en la realización de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. OBJETIVOS.....	7
2.1 Objetivo General.....	7
2.2 Objetivos específicos.....	7
3. MÉTODOS.....	8
3.1 Antecedentes.....	8
3.2 Descripción de sitios de muestreo.....	10
Fosa de Chua.....	10
Laguna Colorada y Laguna Blanca.....	10
3.3 Identificación de las posibles familias y géneros de bacterias halosensibles y halófilas.....	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	13
4.1 Validación de los datos.....	13
4.2 Identificación de grupos de importancia para el estudio.....	15
4.3. Identificación de posibles bio-indicadores del cambio climático.....	23
5. CONCLUSIONES.....	28
6. REFERENCIAS.....	29
7. SUPLEMENTARIOS.....	35

RESUMEN

El estudio del paleoclima es crucial para entender las variaciones climáticas actuales, por lo cual cada vez se hacen más esfuerzos para encontrar indicadores que sean sensibles a variaciones del ambiente. Los sedimentos lacustres son archivos naturales de los cambios que hubo en el pasado y tienen el potencial de proveer información acerca de variaciones limnimétricas del cuerpo de agua a lo largo del tiempo. Una manera indirecta de evidenciar variaciones de nivel en el lago es mediante el análisis de las comunidades microbianas que son sensibles a variaciones de salinidad, al igual que el uso de los ensambles diatomológicos. En esta parte del proyecto “Identificación de bio-indicadores de cambio climático en lagos emblemáticos del altiplano boliviano” se analizó el potencial de los géneros de bacterias con tendencias halófilas encontrados en los sedimentos de la fosa de Chua para ser bio-indicadores del cambio climático mediante una comparación con la variación de las abundancias de diatomeas planctónicas dulceacuícolas del estudio realizado en el mismo lugar por Weide *et al.* (2017) abarcando 2.562 años calibrados antes del presente. Se pudo identificar cuatro candidatos que presentaban una relación inversa a la de las diatomeas planctónicas dulceacuícolas: *Zhouia*, *Aquimarina*, *Bergeyella* y *Marivita*.

Palabras clave: proxy, bio-indicador, bacterias, diatomeas, salinidad

ABSTRACT

The study of the paleoclimate is crucial for understanding climate change, which is why more and more efforts are being made to find proxies that are sensitive to environmental changes. Lake sediments are natural records of past changes and have the potential to provide information about limnometric changes of the lake over time. An indirect way of studying lake volume changes is using bacterial communities that are sensitive proxies to salinity variation, as well as the use of diatoms that are also sensitive to this type of variation. In this part of the project "Identification of bio-indicators of climate change in emblematic lakes of the Bolivian highlands", the potential of the bacterial genera with halophilic tendencies found in the sediments of the Chua trench to be bio-indicators of climate change was analyzed by means of a comparison of the variation of the abundances of freshwater planktonic diatoms of the study carried out in the same place by Weide *et al.* (2017) covering 2,562 calibrated years before present. It was possible to identify four candidates that presented an inverse relationship to that of freshwater planktonic diatoms *Zhouia*, *Aquimarina*, *Bergeyella* y *Marivita*.

Keywords: proxy, bio-indicator, bacteria, diatoms, salinity

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de los sedimentos lacustres es uno de los mejores métodos para estudiar condiciones ambientales pasadas (Baker 2009a, Baker 2009b, Castañeda & Schouten 2011). Esto se debe a que la tasa de sedimentación en sistemas lacustres es tres órdenes de magnitud más alta que en ambientes marinos, proveyendo así registros de alta resolución, es decir, se puede obtener información de centenares de años, décadas e incluso anuales, además que proveen una alta variedad de información indirecta (Battarbee 2000, Baker 2009a, Zolitschka & Enters 2009, Castañeda & Schouten 2011, Bradley 2015).

Los estudios paleolimnológicos asumen que los sedimentos más recientes se encuentran por encima de los más antiguos y que su formación está controlada por el forzamiento radiativo en los paleoclimas y en los últimos siglos por influencias antrópicas (Barker 2009^a, Zolitschka & Enters 2009, Smol 2010). Estas características de los sedimentos lacustres hacen posible la obtención de información acerca de la precipitación, balance hídrico, temperatura, composición química del agua e información de la biomasa o patrones de vegetación (Bradley 2015).

El balance hídrico de una cuenca endorréica está determinado principalmente por el balance entre precipitación y evaporación, que en lagos se da principalmente por cambios en el clima, y se puede reconstruir a partir de cambios en la salinidad, ya que a medida que el volumen de agua disminuye, la concentración de sales aumenta y viceversa (Battarbee 2000, Abbott & Anderson 2009, Barker 2009a).

Los proxies son indicadores sensibles a variaciones en parámetros climáticos como los cambios de temperatura y precipitación repercuten en la salinidad (Castañeda & Schouten 2011). Las diatomeas son proxies biológicos comúnmente usados por sus frústulas de sílice que abundan y son bien preservadas en sedimentos lacustres (Gasse *et al.* 1997, Battarbee 2000, Battarbee *et al.* 2002, Smol 2010, Castañeda & Schouten 2011), además que son sensibles a cambios de pH, temperatura, niveles de nutrientes y salinidad (Gasse *et al.* 1997, Battarbee 2000, Leventer 2009). Las comunidades bacterianas también son sensibles a estos cambios, en particular a los cambios en la salinidad que es un factor de influencia en su composición y por lo cual son utilizadas como indicadoras de eventos climáticos (McGenity & Oren 2012).

Se pueden catalogar a las bacterias en base a la salinidad en la que pueden vivir de la siguiente forma: halófilas extremas (2,5 – 5,2 M NaCl), halófilas extremas limítrofes (1,5 a 4,0 M NaCl), halófilas moderadas (0,5 – 2,5 M NaCl), halotolerantes que no requieren sal para su crecimiento

pero que pueden tolerar incluso altas concentraciones de sal (McGenity & Oren 2012) y las halosensibles que son aquellas que no pueden vivir en altas concentraciones de sal (Zhang *et al.* 2014, Hu *et al.* 2018). Las bacterias halófilas pueden tener diversos tipos de metabolismos, entre ellos pueden ser fotótrofos oxigénicos, fotótrofos anoxigénicos, quimiorganoheterótrofos aerobios, quimiolitautótrofos aeróbicos, fermentadores, sulfato-reductores, denitrificadores, metanógenos y acetógenos (McGenity & Oren 2012, Oren 2015).

Las comunidades bacterianas pueden estudiarse a partir de biomarcadores orgánicos que son producidos a partir de su actividad biológica (Gornitz 2009, Bradley 2015). Estos biomarcadores deben ser geoquímicamente estables, estar bien preservados en el registro sedimentario, tener análogos modernos, y estar distribuidos durante periodos de tiempos geológicos prolongados (Gornitz 2009). Entre estos biomarcadores se encuentran ácidos grasos, esteroides, alquenonas, pigmentos, derivados de lignina y más recientemente el DNA (Gornitz 2009, Castañeda & Schouten 2011, Bradley 2015).

Durante la última década se fortalecieron las aproximaciones metagenómicas recuperando DNA de diversos ambientes para estudios paleoambientales, permitiendo analizar organismos vivos y organismos que perecieron hace mucho tiempo, que al no tener mecanismos de reparación activos dejan un DNA degradado almacenado en los sedimentos al que se lo llama DNA antiguo sedimentario (sedaDNA) (Armbrecht *et al.* 2019). Esto es posible amplificando las señales, incluso menores a 500 pb utilizando la técnica del PCR, que viabiliza definir la riqueza y diversidad sistemática hasta el nivel de especie en el análisis de Secuenciación de Siguiete Generación (NGS) (Inagaki & Nealson 2006, Coolen & Gibson 2009, Castañeda & Schouten 2011), lo cual le confiere una ventaja frente a los demás biomarcadores (Castañeda & Schouten 2011).

El DNA puede preservarse durante largos periodos de tiempo (miles de años) bajo condiciones anóxicas, frías y en ausencia de luz en la profundidad de los sedimentos, en especial el DNA de los procariotas que es circular y se absorbe mejor en partículas de arcilla y minerales (Inagaki & Nealson 2006, Eglinton & Eglinton 2008, Boere *et al.* 2011, Castañeda & Schouten 2011). Por este motivo, el DNA que se almacena en los sedimentos corresponde a los taxa que estaban presentes en el momento de la deposición y es muy útil para estudios del Holoceno tardío (Castañeda & Schouten 2011).

Múltiples estudios utilizaron sedaDNA de procariotas para reconstrucciones

paleoclimatológicas (Coolen *et al.* 2004, Hou *et al.* 2014, Orsi *et al.* 2017, More *et al.* 2019) Coolen *et al.* (2004), utilizó 18S rDNA para identificar especies de algas verdes haptófitas y diatomeas en el lago Ace y lo comparó con las concentraciones de biomarcadores lipídicos (alquenonas y alquenoatas), demostrando una buena concordancia entre ambos biomarcadores a la hora de reconstruir el desarrollo post-glacial del lago. Los cambios cualitativos y cuantitativos de la diversidad planctónica se asociaron a cambios en la salinidad del lago.

More *et al.* (2019), vio los cambios en el microbioma sedimentario del Mar Negro a partir del DNA completo en sedimentos que abarcan un periodo de 13.5 Ka. El estudio concluye que las comunidades microbianas del subsuelo en las capas sedimentarias del Mar Negro son genéticamente distintas debido al aislamiento de las aguas superficiales durante un largo período de tiempo. El estudio encontró que hubo cambios significativos en la estructura de la comunidad microbiana asociados con cambios en el ambiente de paleodeposición.

En el estudio de Hou *et al.* (2014), utilizó el sedaDNA de cianobacterias y algas eucariotas no fosilizadas en un sedimento de 5 m de profundidad del lago Kusai en el Tíbet, reveló que los cambios generados por monzones sobre la disponibilidad de nutrientes, temperatura y salinidad fueron responsables en los cambios temporales de la abundancia de cianobacterias (*Synechococcus*) y el alga haptófito (*Isochrysis*).

El gen 16S rRNA se considera un excelente marcador filogenético de procariotas que consiste en 9 regiones hipervariables que están flanqueadas por regiones conservadas que permiten la creación de primers mientras que las hipervariables permiten la clasificación a distintos niveles sistemáticos (Herzyk 2014, Ziesemer *et al.* 2015). Para explorar estos niveles primero se construyen Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs) que puedan ser asignados a distintos grupos taxonómicos (Herzyk 2014).

Orsi *et al.* (2017) realizó un estudio metagenómico del DNA sedimentario usando la región hipervariable V4 del gen 16S rRNA de muestras del mar Arábigo a una escala de resolución centesimal en un contexto de reconstrucción paleoclimatológica utilizando diferentes proxies. Se analizaron las distribuciones de las bacterias reductoras de azufre y metanógenos en sedimentos dentro de la zona mínima de oxígeno. El análisis metagenómico integrado y bases de datos paleoceanográficos revelaron que los taxa subsuperficiales y su metabolismo se correlaciona con las condiciones deposicionales pasadas durante el último ciclo glacial e interglacial. Se determinó, a una escala de resolución centenal, que las comunidades

microbianas marinas responden a las condiciones oceanográficas cambiantes durante los ciclos glaciares-interglaciares.

Sud América es una región importante para estudios paleoclimatológicos debido a que eventos como el ENSO (El Niño Oscilaciones del Sur), fluctuaciones de la localización estacional de ITCZ (Zona de Convergencia Intertropical) y los cambios en la fuerza de la circulación de monzones en el verano tienen implicaciones climáticas importantes (Abbott *et al.* 1997). La cuenca del Lago Titicaca es particularmente sensible a los cambios en el balance hídrico (precipitación vs. evaporación) debido a que el 90% del agua que se pierde es por evaporación y solo el 10% se pierde por el río Desaguadero (Bruno *et al.* 2021), y esto se debe principalmente por el ambiente semiárido y de gran altitud a la que se encuentra (Abbott & Anderson 2009).

Se realizaron estudios paleolimnológicos en el Lago Titicaca utilizando distintos proxies con los cuales se reconstruyó la historia de las fluctuaciones de su volumen. Abbott *et al.* (1997), mediante el análisis de series de registros sedimentarios y observaciones de las características sedimentológicas, identificó brechas en la acumulación de sedimentos y con análisis de radiocarbón las dató, estableciendo el tiempo y la magnitud de cinco periodos durante los cuales el volumen del lago disminuyó, llegando a reconstruir la historia de los últimos 3500 años calibrados antes del presente (cal a AP).

Posteriormente, se realizó un estudio para ampliar la resolución temporal de la historia del lago durante el Holoceno Tardío usando a las diatomeas como proxies tomando en cuenta sus preferencias a la salinidad en un registro paleolimnológico de la fosa de Chua y comparando con otro estudio permitiendo reconstruir la historia completa de los últimos 4000 años (Weide *et al.* 2017). Los resultados de este estudio sugieren que el lago estaba seco durante los 6500 AP calibrados, empezó a llenarse alrededor de los 4400 AP cal. y se mantuvo salino con extensos humedales y abundantes plantas acuáticas hasta los 3800 AP cal.; hasta los 1250 AP cal., el lago fluctuó, llegando a tener periodos más secos que otros, hasta que finalmente aumentaron las especies planctónicas de agua dulce, lo que sugiere un aumento del nivel del lago con una disminución concomitante de la salinidad. Desde 840 AP, El lago se volvió gradualmente más menos salino y hacia 80 AP cal, las especies tolerantes a la salinidad eran escasas y el lago estaba dominado por diatomeas planctónicas de agua dulce, lo que lo asemeja al lago profundo actual.

Este trabajo dirigido es parte del proyecto: “Identificación de bio-indicadores de cambio climático en lagos emblemáticos del altiplano boliviano” que pudo elucidar un modelo de funcionamiento ecológico básico de las lagunas Colorada, Blanca y el Lago Titicaca, se pudo determinar que las lagunas pasaron periodos secos y de aguas menos salinas, mostrando su alta sensibilidad a los cambios climatológicos. Se lograron identificar y cuantificar las bacterias presentes a diferentes profundidades del sedimento proporcionando información sobre la paleodiversidad bacteriana.

El objetivo principal de esta parte del proyecto es determinar la posibilidad de utilizar bacterias halófilas o halosensibles como bioindicadoras del cambio climático. Se identificaron las familias y géneros de bacterias halófilas y halosensibles presentes en los sedimentos del Lago Titicaca, en base a su abundancia relativa y autoecología en los primeros 10 y 20 cm de sedimento de las lagunas Colorada y Blanca, para luego identificar aquellas que se encontraban en las muestras del lago Titicaca. Posteriormente, se identificaron las bacterias halosensibles que estaban presentes en el lago Titicaca y en las muestras de las lagunas Colorada y Blanca, obteniendo así familias y géneros de bacterias halófilas y halosensibles presentes en los sedimentos del Lago Titicaca candidatas a bioindicadores. Posteriormente se comparó la variación de abundancia relativa de las bacterias identificadas como halófilas y halosensibles del Lago Titicaca con las abundancias relativas de las diatomeas planctónicas dulceacuícolas en el Lago Titicaca obtenidas por Weide *et al.* (2017).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Determinar si es posible utilizar a las bacterias halófilas o halosensibles como bioindicadores del cambio climático en el lago Titicaca.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar las posibles familias de bacterias halosensibles y halófilas que muestren una tendencia de preferencia correspondiente a la salinidad de los cuerpos de agua entre 10 y 20 cm de profundidad.

- Identificar los posibles géneros dentro de las familias seleccionadas que muestren una preferencia correspondiente a la salinidad (halosensibles o halófilas) de los cuerpos de agua entre 10 y 20 cm de profundidad.

- Determinar si existe una correlación negativa de la abundancia de bacterias halófilas en

los sedimentos del lago Titicaca con la abundancia de diatomeas planctónicas de agua dulce del estudio de Weide *et al.* (2017).

3. MÉTODOS

3.1 Antecedentes

En la primera parte del proyecto se reconstruyó la historia del lago Titicaca, laguna Blanca y laguna Colorada retrocediendo entre 4000 y 8000 años dependiendo del cuerpo de agua a partir de la datación y estudio de los registros sedimentarios. Al mismo tiempo estudió los cambios de las comunidades bacterianas y de diatomeas. Se realizó la toma de muestras de los sedimentos en abril del 2016 utilizando colectores de muestras *Russian-corer* (Figura 1) y de percusión. Una vez obtenidas las muestras, se cortaron los tubos PVC longitudinalmente y se caracterizaron preliminarmente los sedimentos en base a cambios de color y textura. Posteriormente, las muestras de sedimento se separaron centímetro a centímetro con láminas de cobre previamente lavadas y enjuagadas antes y después de cada uno de los cortes. Luego se utilizaron jeringas estériles de 5 ml con las puntas cortadas, para obtener submuestras no contaminadas del centro, para posteriormente ser utilizadas para los análisis de genéticos.

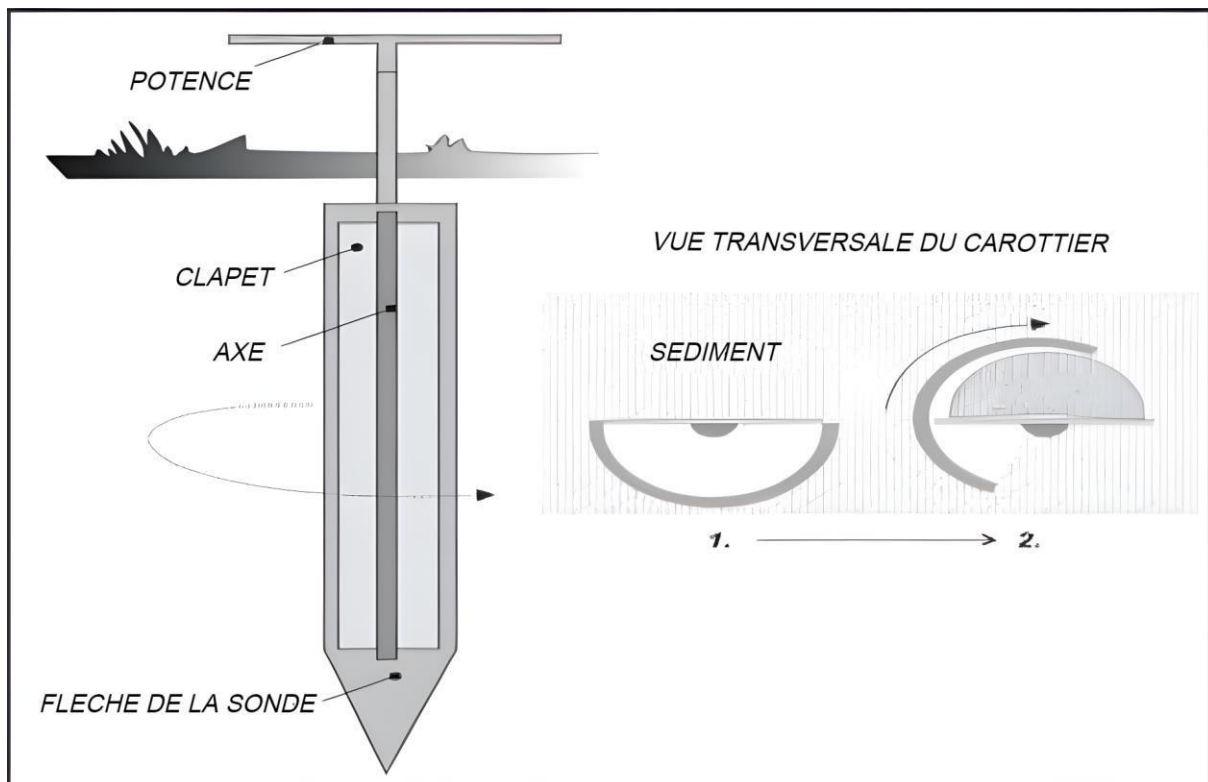


Figura 1. Diagrama de muestreo de sedimentos ruso ilustrando el mecanismo de funcionamiento del sistema.
Stephan Guedrón

Se colectaron muestras de agua para obtener datos de cationes, aniones y nutrientes. También se tomaron datos físico-químicos con una zona multiparamétrica Hanna HI9810 (oxígeno disuelto, pH, conductividad, sólidos disueltos, salinidad, potencial redox, temperatura y presión).

Se realizó la extracción de DNA con el kit OmegaBioservices y el análisis genético para las regiones V3 y V4 altamente variables del gen 16S rRNA mediante la plataforma MiSeq Illumina que se basa en el método de secuenciación por síntesis con terminadores de colorante reversibles que permite la identificación de bases individuales a medida que se introducen en las hebras de DNA.

Esta parte del proyecto sólo contempla el análisis de los datos procesados obtenidos por secuenciación por MiSeq. A continuación, en la figura 2 se observa el esquema de los métodos utilizados.

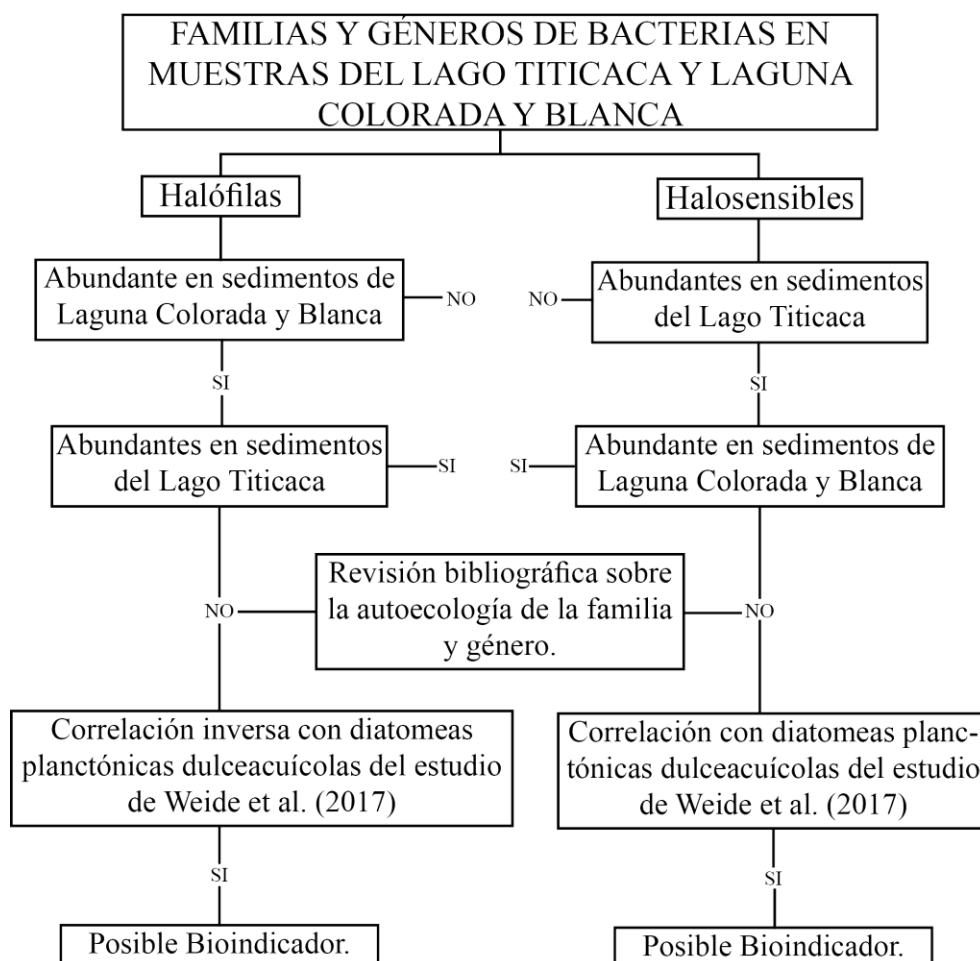


Figura 2. Gráfica de métodos seguidos

3.2 Descripción de sitios de muestreo

Fosa de Chua

El Lago Titicaca se encuentra en los Andes a 3.810 m.s.n.m. y es considerado el lago navegable más alto del mundo (Abbott *et al.* 1997, Ministerio de Medio Ambiente y Agua 2017). Se divide en el Lago Mayor y en el Lago Menor o Wiñaymarka (Abbott *et. al.* 1997). Dentro del Lago Menor se encuentra la fosa de Chua que tiene una profundidad máxima de 42 m. La precipitación anual es de 600 – 800 mm (SENAHMI 2019). La salinidad del lago Titicaca es de $1,01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (1010 ppm) y su conductividad es de $1585 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ haciendo que el lago sea ligeramente salino. Las muestras se tomaron de la fosa de Chua. Los sedimentos eran arcillosos/limosos en general.

Los modelos de edad se realizaron a partir del ^{14}C usando la metodología descrita en el estudio de Weide *et al.* (2017). Se pudo obtener una datación de 3.000 años antes del presente en el Lago Titicaca donde cada centímetro equivale a 15 años. La sedimentación fue más o menos constante durante todo ese periodo.

Laguna Colorada y Laguna Blanca

Los Lípez se encuentran en el altiplano boliviano, en el departamento de Potosí entre los 4200 a 6000 m.s.n.m. y comprende un complejo de lagunas endorréicas permanentes, salinas, hipersalinas y alcalinas (Ramsar 2020). En los Lípez se encuentran las lagunas Colorada y Blanca. La salinidad de la laguna Colorada es de $106 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (106000 ppm; $165200 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$). La salinidad del sector 1 de la laguna Blanca es de $15.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (15400 ppm, $24000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), y del sector 2 es de $22.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (22100 ppm; $34530 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) haciendo estos sectores moderadamente salinos. Al estar en una misma región la precipitación de la región de los Lípez en la que se encuentra es de 96,6 mm anualmente (Ministerio de Medio Ambiente y Agua, 2017).

Los 60 cm de sedimento de la laguna Blanca eran arcillosos/limosos, de los 60 cm hasta los 80 eran limosos/ arenosos y de los 80 cm a 100 cm eran arcillosos/ limosos con algunas capas limosas/ arenosas. Los sedimentos de la Laguna Colorada son arcillosos/limosos.

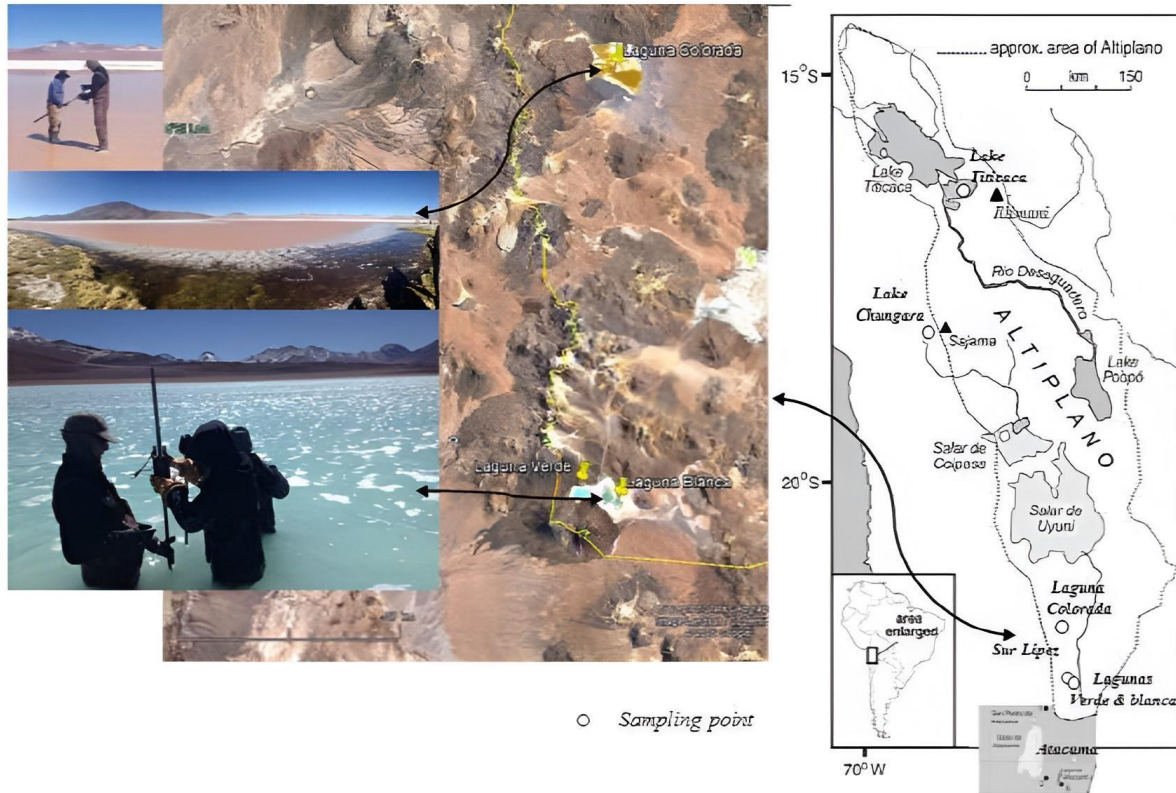


Figura 3. Área de estudio mostrando los sitios de muestreo. Elaboración Stephan Guedrón

3.3 Identificación de las posibles familias y géneros de bacterias halosensibles y halófilas

A partir de los datos de familias obtenidos por MiSeq Illumina de 49 muestras de sedimentos de los tres cuerpos de agua en total, se realizaron los análisis de la metodología (Fig. 1). Se tomaron en cuenta 200 cm de profundidad de los sedimentos del lago Titicaca debido a que este tiene una datación que fue corroborada en previos estudios (Abbott *et al.* 1997, Weide *et al.* 2017) y se tomaron en cuenta los primeros 20 cm en el caso de la laguna Colorada y Blanca debido a que estas muestras sirvieron solamente para visualizar el tipo de bacterias halófilas que se encontraban también en las distintas muestras del lago Titicaca y posibilitaron encontrar las bacterias halófilas que podían ser posibles bio-indicadores. De las 49 muestras 38 eran del lago Titicaca, específicamente de la fosa de Chua (CH-A2-cm de profundidad), 2 de la laguna Colorada (LCO1-cm de profundidad), y 9 de la laguna Blanca donde 4 son del sector 1 y 5 del sector 2 que se diferenciaron por la salinidad (el sector 2 es más salino que el sector 1) (LBO1-cm profundidad y LBO2-cm de profundidad correspondientemente).

Se realizó una depuración inicial de las 298 familias de bacterias obtenidas en las 48 muestras

de sedimento eliminando del análisis a las familias que tenían valores de conteo de secuenciación menores a 30 obteniendo 229 familias en total (Anexo 1). Los grupos con un menor valor de secuenciación a 30, es decir que durante la secuenciación sólo se contó 30 veces la secuencia perteneciente a ese organismo, son muy difíciles de comparar entre muestras, ya que los valores tan bajos pueden deberse a errores de secuenciación y la variabilidad podría atribuirse a otros factores como eficiencia de extracción o amplificación del 16S en lugar de diferencias ambientales que condicionen su distribución.

Posteriormente se realizaron graficas en Microsoft Excel(2019) y en Sigmaplot (14.0) para cada una de las familias comparando su abundancia en cada uno de los ambientes acuáticos (Fosa de Chua, laguna Colorada y Blanca) para visualizar en cuál de estos cuerpos de agua se encuentran en mayor abundancia, infiriendo que si hay mayor abundancia en los ambientes más salinos (lagunas Blanca y Colorada) que en el menos salino (lago Titicaca) estas prefieren una mayor salinidad y viceversa, si es que hay mayor abundancia en el ambiente menos salino que en los ambientes más salino, estas prefieren una menor salinidad. Las familias que no mostraron una clara variación de abundancia entre los tres cuerpos de agua fueron descartadas. Una vez separadas las familias que parecían ser halófilas y sensibles a la sal se procedió a obtener los valores de abundancia relativa, tomando cada valor de cada muestra y dividiendo con el valor de bacterias en el total de la muestra (Anexo 1). Se buscó en varios artículos científicos y libros, una clasificación de cada una de las familias para determinar si su descripción era consistente con el gráfico obtenido.

Luego, a partir de los valores de abundancia relativa, se realizó otra depuración entre las bacterias halosensibles depurando todas aquellas que tienen más de 1% de abundancia relativa en aguas salinas y menos de 1% en las muestras de los primeros 10 sedimentos del lago Titicaca. La depuración de las familias halófilas fue a aquellas que tienen menos 0.5 de abundancia en aguas salinas.

Una vez obtenidas las familias halófilas y halosensibles, se buscaron en las bases de datos del NCBI y bibliografía los géneros correspondientes a estas, se verificó la presencia de los géneros en la base de datos obtenida por MiSeq Illumina de las 48 muestras y se procedió a caracterizar cada uno de los géneros. Una vez realizado esto, los datos de los géneros se convirtieron a abundancia relativa en porcentaje (Anexo 2 y Figura suplementaria 1) y se procedió a realizar los gráficos para ver si estos géneros preferían cierta salinidad y si estos tenían una mayor

abundancia en los sedimentos más profundos. Los géneros que tenían valores menores a (0,0008) fueron depurados.

3.3. Correlación de la abundancia de bacterias halófilas en los sedimentos del lago Titicaca con las diatomeas planctónicas de agua dulce del estudio de abundancia de diatomeas de Weide *et al.* (2017) en el Lago Titicaca

Primero se realizó una prueba de correlación de Kendall para determinar la relación entre la datación de los sedimentos obtenidos por la primera parte de este proyecto con la datación de sedimentos obtenidos por el estudio de Weide *et al.* (2017). Para esto, se acomodaron los datos de forma que los años de los sedimentos no difieran mucho (Tabla 1) y se eliminaron aquellos que no concordaban.

Posteriormente se tomó la datación de Weide *et al.* (2017) y se realizó un análisis de correlación de Kendall de los géneros de bacterias que se definieron en los previos pasos como halófilas y diatomeas planctónicas que en el estudio de Weide *et al.* (2017) fueron los indicadores de cambio de salinidad, puesto que estas diatomeas son de agua dulce. Se utilizó este análisis debido a que los datos no eran monotónicos ni tenían distribución normal.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Validación de los datos

Se realizó la calibración la edad de los sedimentos de la datación del proyecto con la datación realizada con diatomeas de Weide *et al.* (2017) (Tabla 1). Los valores de algunas dataciones no fueron tomadas en cuenta debido a que la diferencia de edades entre las dataciones era muy grande (de 20 a 300 años de diferencia). La concordancia de edades de los sedimentos tomados en cuenta es buena en general ya que la máxima variación es de 11 años de diferencia. Esto se puede deber al problema de la batimetría del lago, la topografía de captación de sedimentos, movimientos internos del agua que genera patrones de sedimentación desiguales, haciendo que no todos los sitios de muestreo sean representativos (Barker 2009 a), por esta razón no se esperaba una concordancia exacta entre las profundidades de los sedimentos y las edades obtenidas en ambos estudios. La correlación de Spearman (Figura 4) entre las dataciones del proyecto y Weide *et al.* (2017) tomadas en cuenta mostró una correlación fuerte, monotónica positiva ($r^2 = 1,000$; $P < 0,001$).

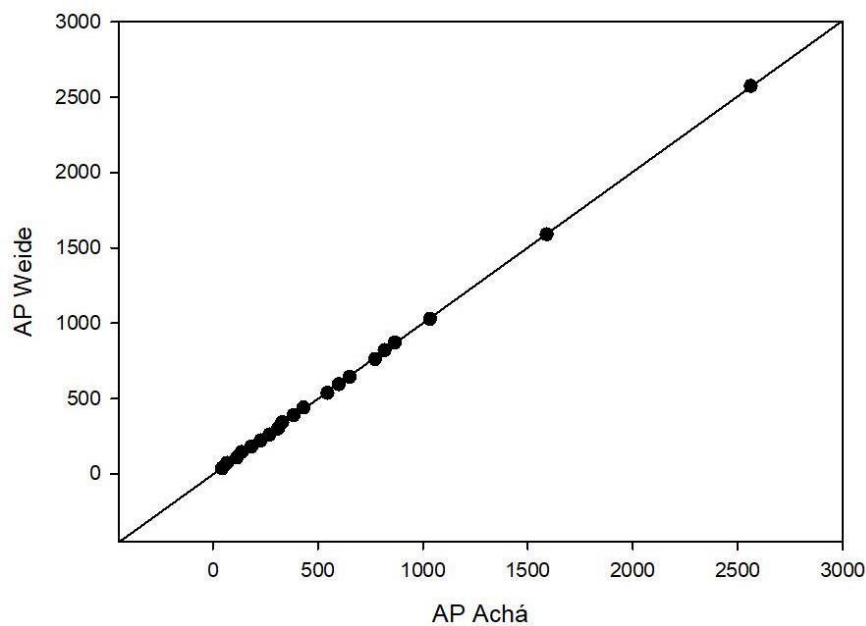


Figura 4. Correlación de Spearman entre la datación del proyecto y los datos obtenidos con diatomeas de Weide *et al.* (2017) en años AP (Años antes del Presente)

Tabla 1. Edad de sedimentos de la datación del proyecto en años antes del presente (AP), profundidad en cm de los sedimentos a los que corresponde las edades y la datación con diatomeas de Weide *et al.* (2017)

Código	Profundidad (cm) de muestras del proyecto	AP Achá 2018	AP Weide <i>et al.</i> 2017
CH-A2-5	5	43	37,4
CH-A2-6	6	67	72,9
CH-A2-8	8	114	108,1
CH-A2-9	9	137	144,5
CH-A2-11	11	183	181,3
CH-A2-13	13	227	222
CH-A2-15	15	270	261,3
CH-A2-17	17	310	301,7
CH-A2-18	18	330	341,9
CH-A2-21	21	384	390
CH-A2-24	24	431	439,3
CH-A2-34	34	545	536,9
CH-A2-40	40	599	595,4
CH-A2-46	46	651	644,1
CH-A2-60	60	772	762,2

CH-A2-65	65	818	821,6
CH-A2-70	70	866	872,3
CH-A2-90	90	1034	1028,4
CH-A2-136	136	1590	1590,2
CH-A2-190	190	2562	2573,8

4.2 Identificación de grupos de importancia para el estudio

Los procariotas son organismos ubicuos a varios ambientes y son componentes esenciales de la biota del planeta. Se estima que en ambientes acuáticos existen alrededor de 1.180×10^{26} células pertenecientes a este grupo, en lagos salinos se estima que hay alrededor de 1×10^{26} células y en lagos de agua dulce $1,3 \times 10^{26}$ células (Whitman *et al.* 1998). Esta estimación nos permite deducir que las abundancias relativas de las familias tienden a ser bajas por la gran cantidad de diferentes bacterias existentes en un solo ambiente, y más aún las de los géneros, ya que existe una gran diversidad de bacterias conocidas y aún desconocidas.

De las 229 familias de bacterias presentes en la totalidad de las muestras, se identificaron 9 familias cuyas abundancias relativas (Anexo 1) indicaban una tendencia de mayor crecimiento en los sedimentos de la fosa de Chua indicando que posiblemente estas familias sean halosensibles, ya que la fosa de Chua se considera como un ambiente ligeramente salino (salinidad de $1,01 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$). Se encontraron 13 familias de bacterias que tenían un crecimiento contrario a las halosensibles, mostrando un mayor crecimiento en las lagunas Blanca y Colorada que son consideradas salina e hipersalina respectivamente, haciéndolas así bacterias halófilas (Tabla suplementaria 1).

De las 13 familias catalogadas como halófilas sólo se tomaron en cuenta ocho, y de las nueve familias catalogadas como halosensibles sólo se tomaron en cuenta dos. Esto debido a que las abundancias relativas de las familias excluidas eran menores al parámetro que se estableció en los métodos, dejando un total de 10 familias de interés cuyos géneros presentes en las muestras fueron analizados (Tabla 2).

Tabla 2. Familias y géneros de bacterias halófilas y halosensibles seleccionadas

Familias halófilas	Género	Familias halosensibles	Géneros
Flavobacteraceae	<i>Flavobacterium</i> <i>Zhouia</i> <i>Bergeyella</i> <i>Aquimarina</i> <i>Muricauda</i> <i>Gillisia</i> <i>Psychroflexus</i> <i>Tenacibaculum</i>	Veillonellaceae	<i>Veillonella</i>
Rhodobacteraceae	<i>Phaeobacter</i> <i>Marivita</i> <i>Rubellimicrobium</i>	Chlorobiaceae	<i>Chloroherpeton</i> *
Campylobacteraceae	<i>Campylobacter</i>		
Halomonadaceae	<i>Kushneria</i>		
Oceanospirillaceae	<i>Marinomonas</i>		
Hyphomicrobiaceae	<i>Pedomicrobium</i>		
Actinopolysporaceae	<i>Actinopolyspora</i>		
Chromatiaceae	<i>Nitrosococcus</i> <i>Chromatium</i> <i>Allochromatium</i> <i>Thiocystis</i>		

* *Chloroherpeton* es un género halófilo de la familia Chlorobiaceae que es halosensible.

La autoecología de las familias descrita a lo largo del texto, no necesariamente es la misma que la de sus géneros. Algunas de las familias que muestran una tendencia a crecer en ambientes salinos (lagunas Blanca y Colorada) e identificadas en este contexto como halófilas, contienen géneros que no necesariamente tienen una preferencia por la salinidad, por lo cual fue necesario analizar los géneros pertenecientes a las familias de interés.

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) entre los géneros de bacterias y los sedimentos para observar su distribución. En la figura 5 se observa en que el género *Veillonella*

se encuentra predominantemente en los sedimentos de la fosa de Chua, los géneros *Pedomicrobium*, *Actinopolyspora*, *Allochrodatum*, *Nitrosococcus*, *Marinomonas*, *Muricauda*, *Bergeyella*, *Zhouia*, *Thiocystis*, *Psychroflexus*, *Phaeobacter*, *Marivita*, *Rubellimicrobium*, *Kushneria* y *Chloroherpeton* predominan en la Laguna Blanca y los géneros *Chromatium*, *Tenacibaculum*, *Aquimarina*, *Flavobacterium*, *Campylobacter* y *Gillisia* en la Laguna Colorada. Esto concuerda con el mapa de calor de las abundancias relativas de todos los géneros (Figura suplementaria 1).

Se descartaron los géneros pertenecientes a las familias: Veillonellaceae, Chlorobiaceae, Chromatiaceae, Actinopolysporaceae, Oceanospirillaceae, Halomonadaceae, Hyphomicrobiaceae, Campylobacteraceae, y los géneros *Flavobacterium*, *Muricauda*, *Gillisia* y *Tenacibaculum* de la familia Flavobacteraceae, y los géneros *Rubellimicrobium* y *Phaeobacter* de la familia Rhodobacteraceae porque no presentaban las características mencionadas en los métodos para considerarse como posibles bioindicadores. Por lo cual, tanto las gráficas de los géneros y las familias mencionados se encuentran en la sección de documentos suplementarios (Figuras suplementarias 2, 3, 4 y 5) y las razones por las cuales se los descartó se encuentra en la Tabla suplementaria 2.

La familia Flavobacteraceae (Figura 6) es la familia más grande del phylum Bacteroidetes conteniendo 140 géneros que tienen un amplio rango de distribución en ambientes marinos como en ambientes dulceacuícolas y que generalmente son aerobios (McBride 2014). Esta familia tiene la mayor abundancia relativa en las muestras de sedimentos, por lo cual se la considera crucial para este estudio. Los datos obtenidos muestran que esta familia tiende a aumentar su abundancia en las lagunas más salinas (laguna Colorada y Blanca).

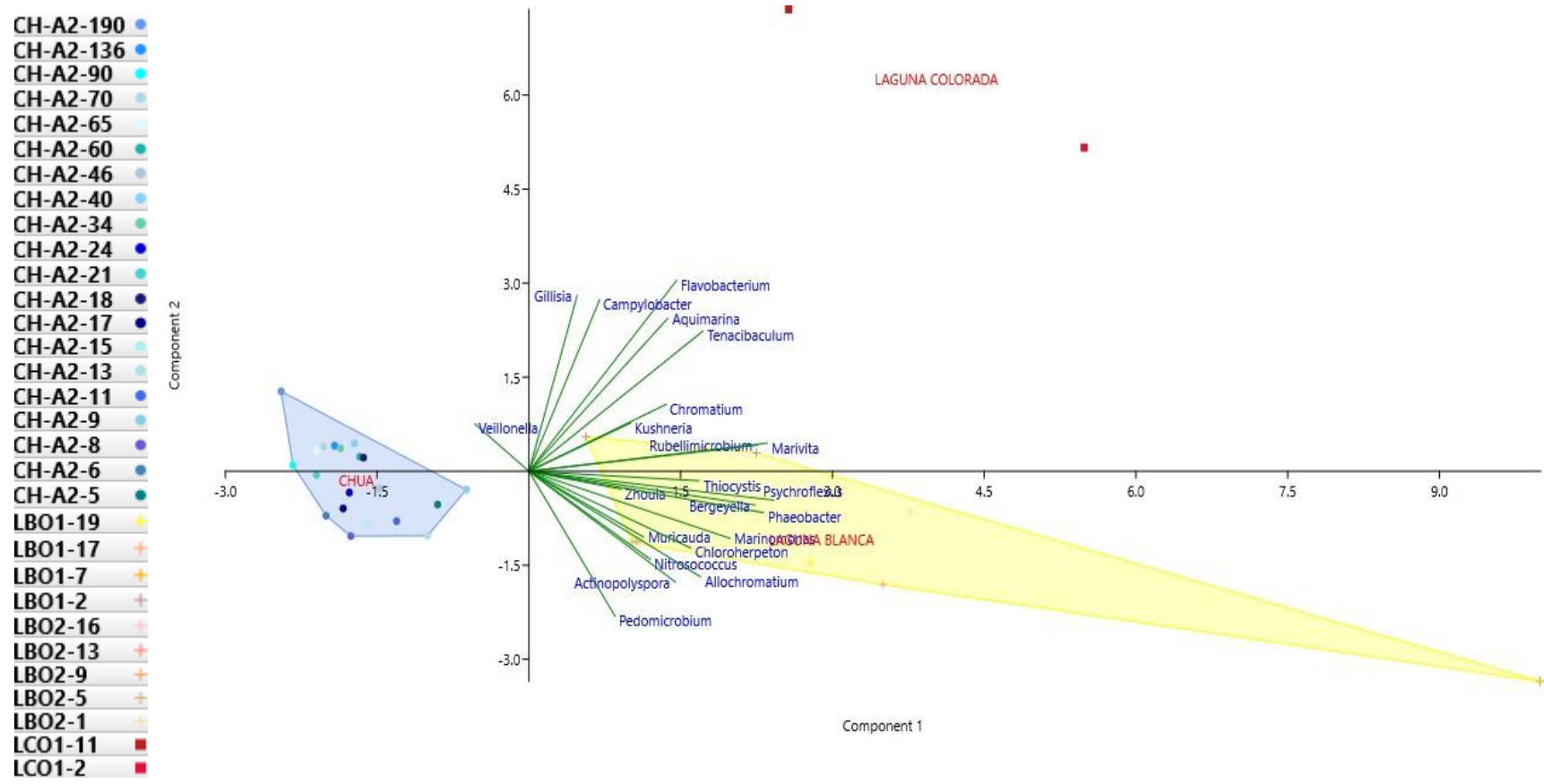


Figura 5. Análisis de componentes principales (PCA) de los géneros de bacterias y las muestras de sedimento

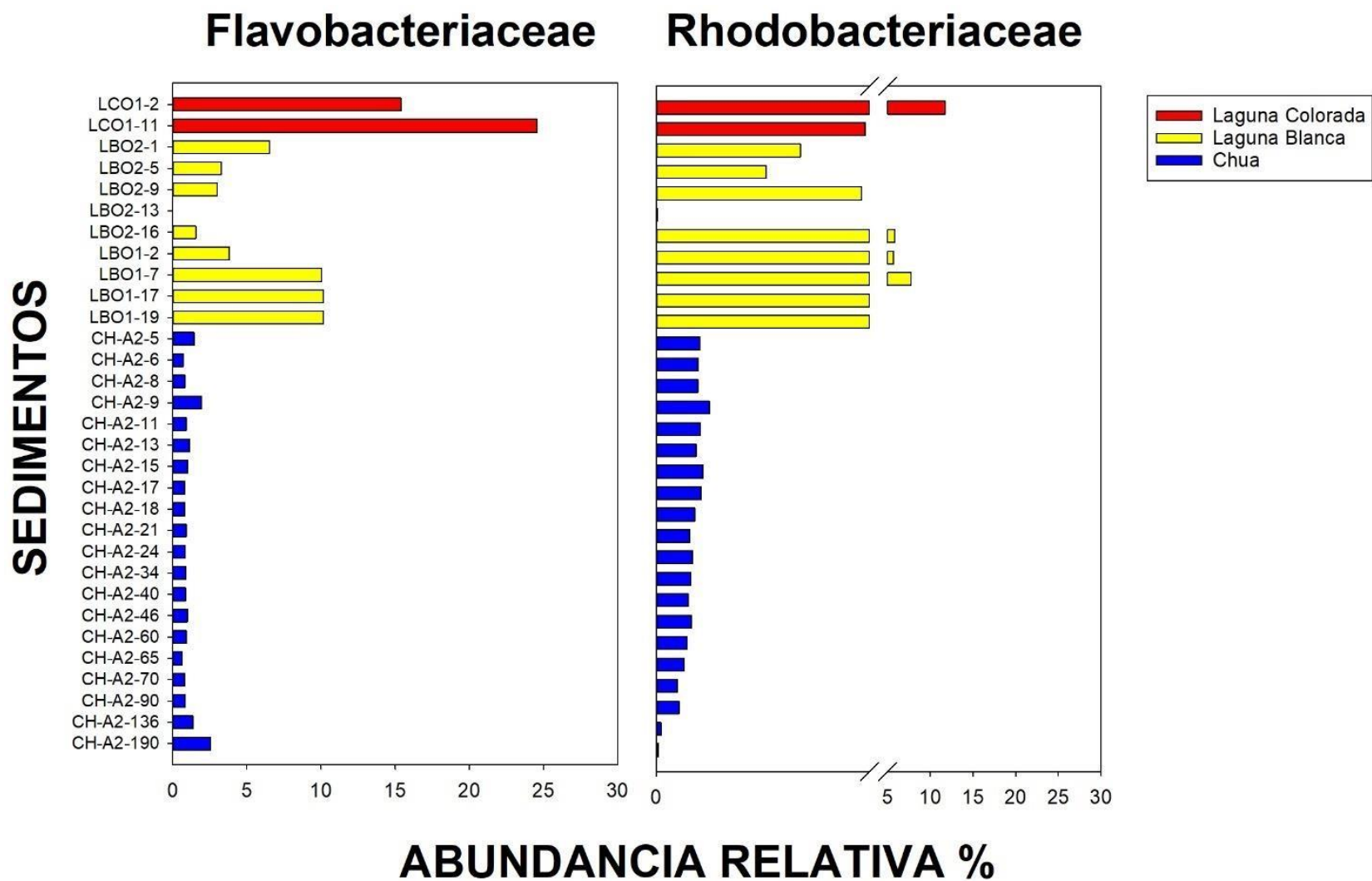


Figura 6. Abundancias relativas de las familias Flavobacteriaceae y Rhodobacteriaceae en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

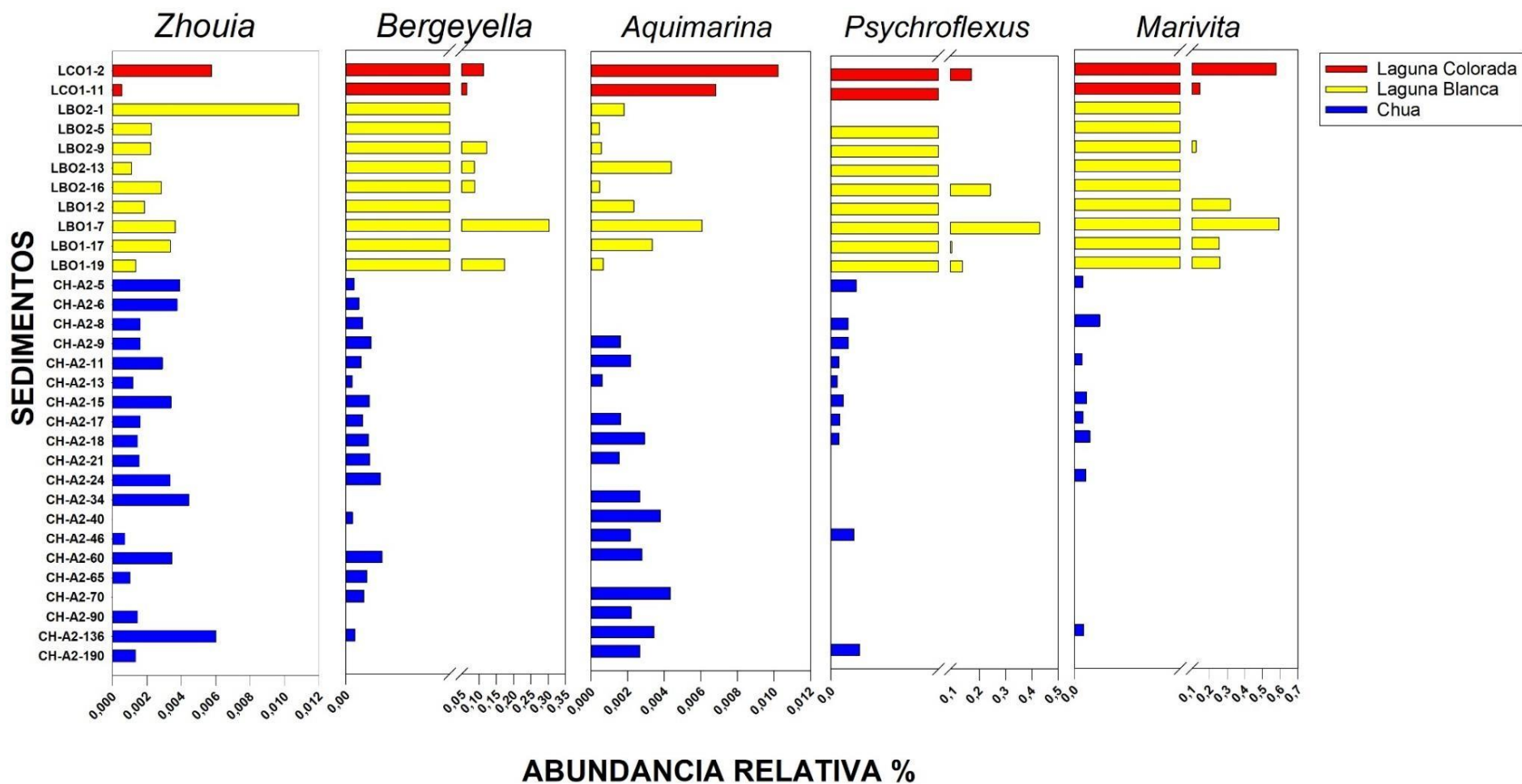


Figura 7. Abundancia relativa de los géneros *Zhouia*, *Bergeyella*, *Aquimarina*, *Psychroflexus* y *Marivita* en las muestras de sedimentos de Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

El género *Zhouia* (Figura 7) se caracteriza porque sus miembros son estrictamente aerobios y (Liu *et al.* 2006). Lo interesante es que el género se encuentra casi ubicuamente en todos los sedimentos, incluso en la fosa de Chua que tiene una salinidad menor a sus requerimientos y al parecer no tiene una tendencia de aumento en las lagunas salinas. Hasta ahora se conocen dos especies pertenecientes a este género: *Zhouia spongiae* (Zhuang *et al.* 2018) y *Zhouia amylolytica* (Liu *et al.* 2006) que fueron aisladas de ambientes marinos y necesitan concentraciones de NaCl entre 4.5% - 5% y 2% - 5% respectivamente. Este género se tomó en cuenta para los análisis posteriores por sus características autoecológicas que nos indican que este género es halófilo y porque su abundancia relativa de hasta 0.007 es alta en ciertos sedimentos de Chua (CH-A2-5, CH-A2-6, CH-A2-11, CH-A2-15, CH-A2-24, CH-A2-34, CH-A2-60, CH-A2-136) en relación a la abundancia de las lagunas más salinas. La preferencia por la salinidad de las especies conocidas de este género puede indicar que durante esos periodos la salinidad haya incrementado en la fosa de Chua. Por otro lado, la abundancia baja en el sedimento la laguna Colorada (LCO1-11), esto llama la atención, ya que esta laguna es la más salina. Esto podría deberse a que la salinidad en este lago durante la sedimentación haya cambiado o quizás exista otro factor químico que afecte a este género.

El género *Bergeyella* (Figura 7) es un género parasítico y saprofítico, sus miembros son estrictamente aerobios encontrados en los tractos urinarios de mamíferos (Holmes *et al.* 1986, Vandamme *et al.* 1994). La presencia de este género en los sedimentos es interesante, ya que no existe evidencia científica de que se lo encuentre libre en aguas, aunque en algunos estudios se sugiere que podrían especies de vida libre que podrían ser incluidas en este género (Hugo *et al.* 2006). Tampoco existe información que indique que hay una tendencia de crecimiento en ambientes más salinos, aunque los datos tomados en este proyecto muestren que si tiene cierta tendencia hacia la halofilia. Por otro lado, en el caso de que este género se encuentre en los sedimentos por la presencia de mamíferos en cercanías de los cuerpos de agua, se esperaría que exista una mayor abundancia en la fosa de Chua, puesto que la ganadería es más común en sus alrededores que en las lagunas Colorada y Blanca, justamente por su baja salinidad.

El género *Aquimarina* (Figura 7) es un género quimioorganótrofo, estrictamente aerobio, halófilo, que requiere un rango de salinidad entre 1 a 10% para su crecimiento (Nedashkovskaya *et al.* 2011). Se observa que una ausencia de este género en algunos sedimentos de Chua (CH-A2-5, CH-A2-6, CH-A2-8, CH-A2-15, CH-A2-24, CH-A2-65) que llama la atención, debido a

esto y a sus características autoecológicas se tomó en cuenta para los siguientes análisis.

El género *Psychroflexus* (Figura 7) pertenece al clado marino de la familia Flavobacteraceae, este está adaptado a bajas temperaturas, es estrictamente aerobio, heterótrofo, se encuentra en ambientes hipersalinos y tiene requerimientos de salinidad entre 25 a 200 ppt. que equivale a 2,5%-20% salinidad, salvo el género *Psychroflexus tropicus* que es halotolerante y puede sobrevivir entre 0% - 20% (Bowman 2006). Al igual que el género *Aquimarina* muestra una clara tendencia de crecimiento en ambientes más salinos. Presenta una mayor abundancia relativa mayor en el sedimento CH-A2-190 (2573,8 años BP), que se explica con la baja profundidad que tenía el lago Titicaca (Weide *et al.* 2017). La ausencia de este género en los sedimentos: CH-A2-21, CH-A2-24, CH-A2-34, CH-A2-40 y CH-A2-46 posiblemente se dé por el aumento gradual del volumen del lago. La ausencia de los sedimentos CH-A2-60, CH-A2-65, CH-A2-70, CH-A2-90, CH-A2-136 es difícil de explicar tomando en cuenta solamente la salinidad, que durante ese periodo de tiempo era mayor, lo cual nos indicaría que posiblemente se deba a otros factores que se desconocen.

La familia Rhodobacteraceae (Figura 6) comprende miembros fotoheterótrofos, fotoautótrofos, quimiótrofos, aerobios y anaerobios facultativos que mayormente son acuáticos (Pujalte *et al.* 2014). Esta familia tiene abundancias relativas altas, lo que sugiere que es importante en estos ecosistemas acuáticos. Si bien no está presente en el sedimento de la laguna Blanca LBO2-13, hay una consistencia con el crecimiento en las lagunas más salinas mientras que la presencia en los sedimentos de Chua es relativamente constante y baja abruptamente en los sedimentos más profundos (CH-A2-136, CH-A2-190) lo cual podría ser decaimiento del DNA.

El género *Marivita* (Figura 7) se compone de bacterias que viven en aguas marinas y son estrictamente aerobias, heterótrofas, y necesitan entre 6%-10% de Na Cl (Pujalte *et al.* 2014). Estas bacterias muestran una abundancia mucho más alta en los sedimentos de las lagunas salinas que en los sedimentos de Chua, pero es interesante observar que no se encuentran en todos los sedimentos, solamente se encuentra en los sedimentos: CH-A2-5, CH-A2-8, CH-A2-11, CH-A2-15, CH-A2-17, CH-A2-18, CH-A2-24, CH-A2-136, además que no se ve un decremento escalonado con la profundidad del sedimento, por lo cual se puede decir que no es por un patrón de decaimiento de DNA, sino que reflejaría que posiblemente fueron afectadas con la variación de la salinidad. Estas características pueden hacer que este sea un grupo de interés como posible bioindicador.

4.3. Identificación de posibles bio-indicadores del cambio climático

Se realizó un análisis de correlación de Kendall entre las abundancias relativas de los géneros de interés con las abundancias relativas de las diatomeas planctónicas dulceacuícolas del estudio de Weide *et al.* (2017) para identificar los géneros halófilos que tienen una correlación inversa a las diatomeas y los géneros halosensibles que tienen una correlación positiva (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de correlación de Kendall entre los géneros de interés y las diatomeas planctónicas dulceacuícolas.

Géneros de bacterias con diatomeas planctónicas dulceacuícolas	Coefficiente de correlación de Kendall (r)	p-value
<i>Flavobacterium</i>	-0.137	0,399
<i>Muricauda</i>	0,01	0,948
<i>Tenacibaculum</i>	0.263	0.105
<i>Aquimarina</i>	-0.378	0.023
<i>Zhouia</i>	-0.016	0.922
<i>Gillisia</i>	0.063	0.697
<i>Psychroflexus</i>	-0.030	0.862
<i>Bergeyella</i>	-0.086	0.602
<i>Phaeobacter</i>	0.158	0.330
<i>Rubellimicrobium</i>	0.189	0.243
<i>Marivita</i>	-0.065	0.713
<i>Campylobacter</i>	-0.358	0.027
<i>Kushneria</i>	0.284	0.080
<i>Marinomonas</i>	0.274	0.092
<i>Pedomicrobium</i>	0.011	0.948
<i>Actinopolyspora</i>	0.168	0.299
<i>Nitrosococcus</i>	0.168	0.299
<i>Chromatium</i>	0.116	0.259
<i>Allochromatium</i>	0.259	0.112
<i>Thiocystis</i>	0.331	0.059
<i>Veillonella</i>	0.295	0.069
<i>Chloroherpeton</i>	0.225	0.224

Las correlaciones en general tienen un valor de $p > 0.05$, lo cual no necesariamente indica que no exista correlación, ya que esto podría deberse al tamaño de muestra que es muy pequeño. Para poder dilucidar si efectivamente existe una correlación es necesario aumentar el número de muestras.

Se utilizó la datación de Weide *et al.* (2017) como normalizador, ya que la correlación con la datación del proyecto era muy buena (Figura 4), para comparar las abundancias relativas de las diatomeas planctónicas dulceacuícolas y los géneros de las bacterias (Figura 8). Las diatomeas planctónicas dulceacuícolas que se consideraron en el estudio de Weide *et al.* (2017) fueron *Cyclostephanos andinus*, *Discotella stelligera*, *Cyclotella meneghiniana* y *Fragilaria crotonensis*.

Previamente en el proyecto, el profesor Daniel Aristegui realizó un análisis de consumo de ATP en los sedimentos de Chua (Figura suplementaria 12) para poder caracterizar la actividad metabólica de los organismos presentes en estos sedimentos. Esta figura muestra que hay un consumo de ATP alto en los primeros 20 cm de sedimento, un pequeño pico a los 90 cm y luego una caída de consumo hasta los 200 cm. Este patrón muestra que a mayor profundidad hay menor consumo de ATP, y nos sirve para poder identificar los géneros que podrían ser utilizados como posibles bio-indicadores, porque esto estaría indicando que no están creciendo las bacterias en los sedimentos más profundos y que el DNA analizado es sedaDNA.

Los géneros *Aquimarina*, *Zhouia*, *Bergeyella*, *Marivita* y *Psychroflexus* muestran valores de correlación negativa con las diatomeas planctónicas dulceacuícolas de Weide *et al.* (2017). El único género que tiene una correlación significativa es *Aquimarina* ($r = -0,378$; $p = 0,023$). La variación de su abundancia relativa (Figuras 7 y 8) es diferente al patrón de consumo de ATP en los sedimentos de Chua (Figura suplementaria 12). Esto no quiere decir que existe un consumo de ATP en los sedimentos más profundos, ya que este género es estrictamente aerobio (Nedashkovskaya *et al.* 2011) y por lo tanto el DNA presente es sedaDNA. El aumento de la abundancia en los sedimentos CH-A2-136 y CH-A2-190 que corresponden a 1590,2 AP y 2573,8 AP estarían de acuerdo a los resultados del estudio de Weide *et al.* (2017) que indica que durante estos periodos el lago era poco profundo.

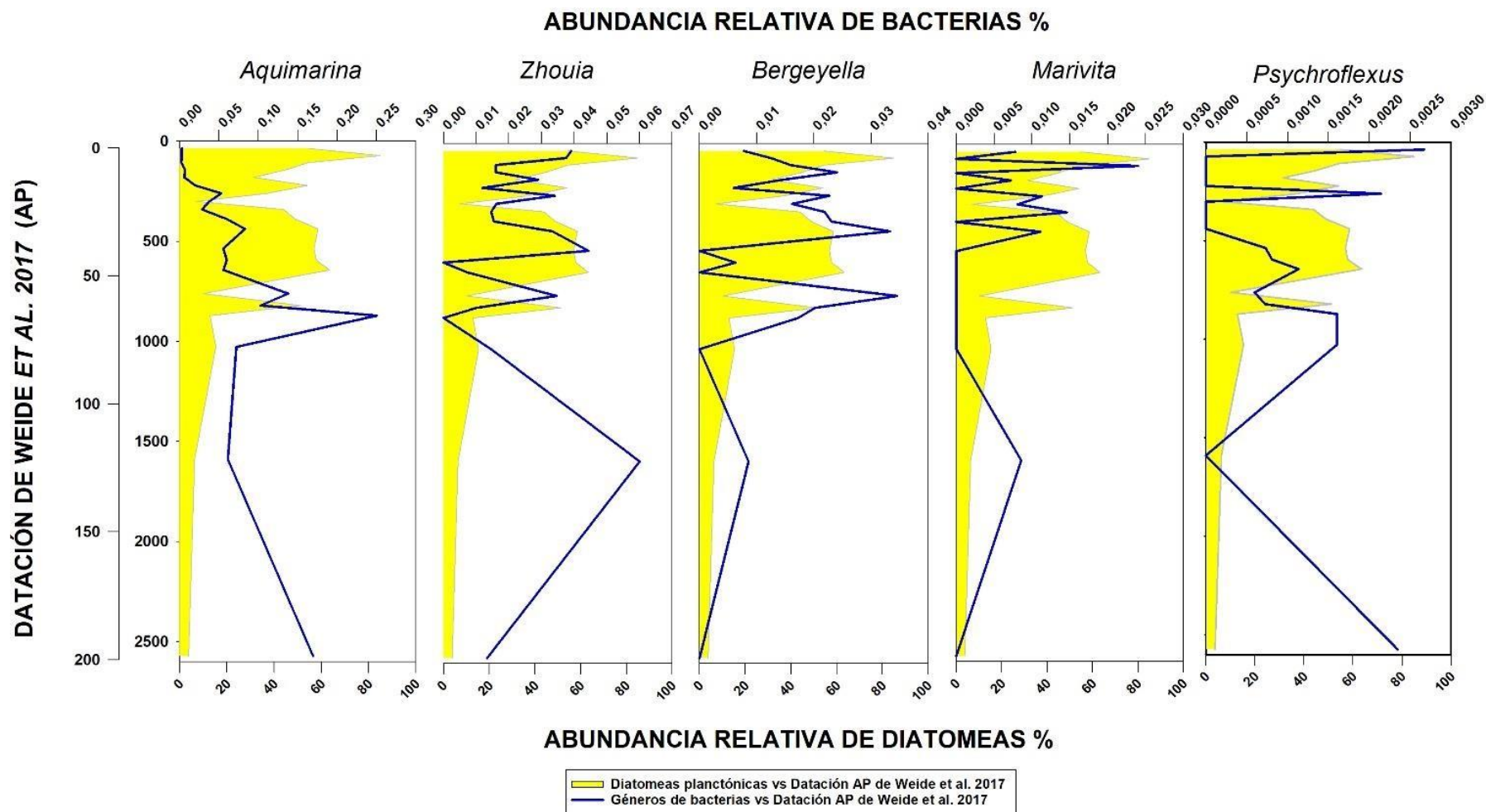


Figura 8. Comparación de crecimiento entre diatomeas planctónicas del estudio de Weide *et al.* (2017) con los géneros *Aquimarina*, *Zhouia*, *Bergeyella*, *Marivita* y *Psychroflexus* con la datación de Weide *et al.* (2017) en años AP como normalizador.

Los géneros *Zhouia*, *Marivita* y *Psychroflexus* son géneros halófilos y aerobios, muestran una correlación negativa baja y un valor de p alto ($r = -0.016$, $p = 0.922$; $r = -0.065$, $p = 0.713$; $r = -0.030$, $p = 0.862$) respectivamente. La abundancia relativa de los géneros *Zhouia* y *Marivita* disminuye con la profundidad (Figuras 7 y 8) y es similar al patrón de consumo de ATP en los sedimentos de Chua (Figura suplementaria 12) lo cual nos da una evidencia más de que el DNA encontrado en las muestras es sedaDNA.

La abundancia relativa del género *Zhouia* es alta en los sedimentos CH-A2-5, CH-A2-6 CH-A2-11, CH-A2-15, CH-A2-24, CH-A2-34, CH-A2-60 fluctúa, y esto posiblemente se deba porque desde hace aproximadamente 850 AP cal (aproximadamente 70 cm de profundidad del sedimento) el volumen del lago Titicaca estuvo aumentando con ciertas fluctuaciones hasta llegar a tener la salinidad del presente (Weide *et al.* 2017). La abundancia relativa del género *Marivita* fluctúa inversamente a la abundancia de las diatomeas planctónicas que prefieren ambientes de agua dulce, aunque coincide con las diatomeas planctónicas en los sedimentos del año 341,9 BP (CH-A2-18) (Figuras 7 y 8). La ausencia en los sedimentos CH-A2-5, CH-A2-8, CH-A2-11, CH-A2-15, CH-A2-17, CH-A2-18, CH-A2-2 probablemente esté relacionada a las fluctuaciones de la salinidad que ocurrieron en ese periodo de tiempo en el que el volumen del lago estaba aumentando, ya que necesitan concentraciones de 6% - 10% de NaCl (Pujalte *et al.* 2014). Esta correlación negativa que se observa en la figura 8 es la esperada, ya que estos géneros son marinos y necesitan iones de sodio (Pujalte *et al.* 2014, Liu *et al.* 2006).

La abundancia relativa del género *Psychroflexus* es diferente a la figura suplementaria 12. Debido a que este género es aerobio, se entiende que el DNA que se observa es sedaDNA. Este género se encuentra en ambientes salinos e hipersalinos y necesitan iones de sodio para su crecimiento (Bowman 20016). La correlación negativa con las diatomeas es esperada, ya que este género es marino y necesita concentraciones altas de NaCl.

El género *Bergeyella* presenta un coeficiente de correlación de -0.086 y un $p = 0.602$ que indica que la correlación es baja. Hasta ahora no se conocen especies de vida libre de este género, pero si se sabe que es un género parasítico y saprofítico que se encuentra en los tractos urinarios y membranas mucosas de algunos mamíferos. Se puede especular en base a esta información que las bacterias podrían ser liberadas al ambiente en la orina de los mamíferos que visitan las lagunas, pero es muy difícil aseverar que estas podrían sobrevivir en ellas ya que no existe información al respecto. Este género es aerobio y muestra una tendencia similar a la de la figura suplementaria 12 (Figuras 6 y 7), por lo cual se considera que el DNA encontrado es sedaDNA.

Este género muestra una relación inversa de abundancia relativa a la de las diatomeas planctónicas que prefieren ambientes de agua dulce, aunque coincide con las diatomeas planctónicas en los sedimentos de 390 año BP y 439,3 años BP (CH- A2-21 y CH-A2-24 respectivamente).

El uso del sedaDNA de bacterias como posible proxy es muy reciente, y a pesar de que con los años se están haciendo más estudios, aún es complicada su interpretación por las limitaciones que presenta. La limitación más importante es que no se conocen aún todos los factores que pueden afectar la preservación del DNA. Si bien se sabe que se preserva mejor en ambientes fríos, anóxicos y oscuros con sedimentos arcillosos, poco se conoce sobre otros factores que podrían influir en su preservación. El DNA preservado se encuentra en cantidades muy pequeñas lo cual dificulta la investigación de especies raras, que podrían ser de especial interés para ambientes específicos. La degradación del DNA en fragmentos más cortos ocurre en los primeros miles de años desde su deposición y las secuencias más cortas que 500 pares de bases son muy complicadas de analizar.

Otra limitante es que no se conoce mucho sobre la migración del DNA en los sedimentos tanto lacustres como oceánicos, ya sea por las corrientes o por el movimiento de animales.

Las bacterias son organismos complicados de estudiar, debido a que responden a una gran cantidad de factores ambientales y su clasificación taxonómica basada en su autoecología, a niveles de familia y género no siempre aplica a todas las especies. Esta es una limitante muy importante como se puede observar en este trabajo, puesto que dentro del mismo género puedes existir especies con distintas preferencias a condiciones de salinidad, además que puede que respondan mejor a otro tipo de factores que a la salinidad.

Otra limitante son las bacterias viables dentro del sedimento, que podrían llevar a mal interpretaciones. Además, que muchas especies bacterianas aún son desconocidas o aún no se pudieron aislar.

Lo ideal sería realizar experimentos en laboratorio, pero es complicado recrear las condiciones necesarias para el crecimiento de las bacterias, de forma que se pueda observar su respuesta a los cambios de salinidad, puesto que no solamente responden a la salinidad, si no a otros factores, como presencia de otros nutrientes y o tal vez dependan de una comunidad bacteriana para su supervivencia.

En el proyecto se tomaron todas las medidas posibles para evitar analizar de manera errónea los

datos obtenidos. Al principio se seleccionaron las familias cuyas abundancias relativas mostraban cierta preferencia a los ambientes más salinos para luego estudiar las abundancias relativas de los géneros. Seguidamente se seleccionaron géneros de bacterias que eran estrictamente aerobios para evitar analizar DNA de células viables.

Conociendo estas limitantes, es importante que en estudios posteriores se realicen análisis paralelos con otros proxies como los lípidos pertenecientes a las bacterias. También se necesitan volúmenes de sedimento más grandes y mayor cantidad de muestras para mejorar la detección de sedaDNA lo cual posibilitaría encontrar correlaciones negativas más certeras.

5. CONCLUSIONES

En el presente análisis preliminar de bacterias halófilas en los sedimentos de lagunas del Altiplano Boliviano se pudo identificar cinco géneros que pueden ser de interés para ser estudiados como posibles bio- indicadores del cambio climático en la fosa de Chua en base a la comparación con las abundancias de diatomeas planctónicas del estudio de Weide *et al.* (2017). Cuatro de los cinco géneros pertenecen a la familia Flavobacteraceae que es el grupo más grande dentro de los Bacteroidetes y uno pertenece a la familia Rhodobacteraceae. De la familia Flavobacteraceae los candidatos son los géneros *Aquimarina*, *Zhouia*, *Bergeyella* y *Psychroflexus*. De la familia Rhodobacteraceae el género *Marivita*.

Estos géneros mostraron las características necesarias para ser considerados como posibles bioindicadores del cambio climático. Como primer punto, estos presentan una preferencia hacia la salinidad que se pudo observar comparando la abundancia relativa de los géneros en la laguna Colorada, Laguna Blanca y la fosa de Chua. Como segundo punto, todos los géneros son aerobios, eliminando la posibilidad de cometer el error de analizar DNA de organismos viables en los sedimentos de mayor profundidad y por lo tanto asumir que el DNA encontrado es sedaDNA. Estas características permiten analizar la variación de la abundancia de estos organismos en sedimentos de distintas profundidades de manera segura.

Por otro lado, la comparación con las diatomeas dulceacuícolas planctónicas, usando como normalizador la datación de Weide *et al.* 2017, permitió observar correlaciones negativas. Las abundancias relativas de las bacterias aumentaban en los sedimentos donde el lago Titicaca se encontraba en un estado más salino y donde las diatomeas dulceacuícolas planctónicas

presentaban una menor abundancia, mientras que sus abundancias se reducían durante periodos en los que el lago Titicaca se encontraba en un estado menos salino.

Este análisis preliminar, logró identificar los géneros de bacterias son aptos para ser investigados a mayor profundidad en el futuro con el fin de validarlos como bio-indicadores de cambio climático, comparándolos con otro tipo de bioindicadores paleoclimatológicos como por ejemplo los lípidos bacterianos y alquenonas de cadena larga.

6. REFERENCIAS

Abbott, M. B, M. W. Binford, M. Brenner & K. R. Kelts. 1997. A 350014C yr High-Resolution Record of Water-Level Changes in Lake Titicaca, Bolivia/Peru. *Quaternary Research*. Volume 47. Issue 2. Pages 169-180

Abbott, M & L, Anderson. 2009. Lake-level fluctuations. Pp. 489-492. In: Gornitz, V (eds) *Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments*. Springer, Dordrecht.

Achá, D. & S. Guedron. 2018. Identificación de bio-indicadores de cambio climático en lagos emblemáticos del altiplano boliviano. PIA.CC-UMSA. La Paz. 135 p.

Armbrecht, L. H., M. J. Coolen, F. Lejzerowicz, S. C. George, K. Negandhi, Y. Suzuki, J. Young, N. R. Foster, L. K. Armand, A. Cooper, M. Ostrowski, A. Focardi, M. Stat, J. W. Moreau & L. S. Weyrich. 2019. Ancient DNA from marine sediments: Precautions and considerations for seafloor coring, sample handling and data generation. *Earth-Science Reviews* 196: 1-13.

Barker, P. 2009 a. Paleolimnology. pp. 738-742. In: Gornitz, V (eds) *Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments*. Springer, Dordrecht

Barker, P. 2009 b. Paleo-precipitation indicators. pp. 746-747. In: Gornitz, V (eds) *Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments*. Springer, Dordrecht.

Bradley, R. 2015. Paleoclimatic reconstruction. pp. 1-11. In: Bradley, R. *Paleoclimatology*:

Reconstructing Climates of the Quaternary. 3rd ed. Elsevier, San Diego.

Boere A.C, W.I. Rijpstra, G.J. De Lange, J.S. Sinninghe Damsté & M. J. Coolen. 2011. Preservation potential of ancient plankton DNA in Pleistocene marine sediments. *Geobiology*. 9(5):377-93

Bowman J.P. 2006. The marine clade of the family Flavobacteriaceae: The genera *Aequorivita*, *Arenibacter*, *Cellulophaga*, *Croceibacter*, *Formosa*, *Gelidibacter*, *Gillisia*, *Maribacter*, *Mesonina*, *Muricauda*, *Polaribacter*, *Psychroflexus*, *Psychroserpens*, *Robiginitalea*, *Salegentibacter*, *Tenacibaculum*, *Ulvibacter*, *Vitellibacter* and *Zobellia*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (eds) *The prokaryotes*, vol 7. Springer, New York, pp 677–694

Castañeda, I. S. & S. Schouten. 2011. A review of molecular organic proxies for examining modern lacustrine environments. *Quaternary Science Reviews* 30: 2851 – 2891.

Coolen, M.J.L., G. Muyzer, W.I.C. Rijpstra, S. Schouten, J.K. Volkman, J.S. Sinninghe Damsté. 2004. Combined DNA and lipid analyses of sediments reveal changes in Holocene haptophyte and diatom populations in an Antarctic lake. *Earth Planet. Sci. Lett.* 223 (1), 225–239.

Coolen, M. J. & A. Gibson. 2009. Ancient DNA in lake sediment records. *PAGES news* 17(3): 104-106

de la Haba R.R., D.R. Arahall, C. Sánchez-Porro, A. Ventosa. 2014. The Family Halomonadaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Eglinton ,T. I. & G. Eglinton. 2008. Molecular proxies for paleoclimatology. *Earth and Planetary Science Letters*. Volume 275, Issues 1–2. Pages 1-16.

Gasse, F., P. Barker, P.A. Gell, S.C. Fritz & F. Chalié. 1997. Diatom-inferred salinity in palaeolakes: An indirect tracer of climatic change. *Quaternary Science Reviews* 16: 547–563

Gibson, J. N. Pfennig & J. B. Waterbury. 1984. *Chloroherpeton thalassium* gen. nov. et spec. nov., a non-filamentous, flexing and gliding green sulfur bacterium. *Arch Microbiol.* 138(2):96-101

Goodfellow, M. & M. E. Trujillo. 2015. Actinopolysporaceae. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1–1.

Gornitz, V. 2009. Paleoclimate proxies, an introduction. pp. 716-720. In: Gornitz, V (eds) *Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments*. Springer, Dordrecht.

Herzyk, P. 2014. Next- Generation Sequencing. Pp. 125-145. In: Padmanabhan, S (eds). *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*. Academic Press

Holmes, B, A. G. Steigerwalt, R E. Weaver and D. J. Brenner. 1986. *Weeksella virosa* gen. nov., sp. nov. (formerly Group IIf), found in human clinical specimens. *Syst. Appl. Microbiol.* 185-190.

Hu, Y, C. Bai, J. Cai, K. Shao, X. Tang & G. Gao. Low recovery of bacterial community after an extreme salinization-desalinization cycle. 2018. *BMC Microbiol.* 18(1):195.

Imhoff, J. F., J. Süling, R. Petri. 1998. Phylogenetic relationships among the Chromatiaceae, their taxonomic reclassification and description of the new genera *Allochromatium*, *Halochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium*, *Thiococcus*, *Thiohalocapsa* and *Thermochromatium*. *Int J Syst Bacteriol.* 48 Pt 4:1129-43.

Imhoff, J.F. 2014. The Family Chromatiaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Imhoff, J.F. 2014. The Family Chlorobiaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Inagaki, F & K.H, Neilson. 2006. The paleome: letters from ancient earth. In: Neretin, L (eds) Past and Present Water Column Anoxia. Nato Science Series: IV: Earth and Environmental Sciences, vol 64. Springer, Dordrecht.

Lastovica.A.J, S.L.W. On & L. Zhang. 2014. The Family Campylobacteraceae. In: Rosenberg. E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) The Prokaryotes. Springer, Berlin, Heidelberg.

Leventer, A. 2009. Diatoms. pp. 279-780. En: Gornitz, V (eds) Encyclopedia of Paleoclimatology and Ancient Environments. Springer, Dordrecht.

Liu. Z. P, B.J. Wang, X. Dai, X.Y. Liu & S.J. Liu. 2006. *Zhouia amylyolytica* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Flavobacteriaceae isolated from sediment of the South China Sea. Int J Syst Evol Microbiol .56(Pt 12):2825-2829.

Marchandin H. & E. Jumas-Bilak. 2014. The Family Veillonellaceae. In: Rosenberg E.,

DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) The Prokaryotes. Springer, Berlin, Heidelberg.

McBride M.J. 2014. The Family Flavobacteriaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) The Prokaryotes. Springer, Berlin, Heidelberg.

Mcgenity, T. J. & A. Oren. 2012. Hypersaline environments. pp. 402-437 In: Bell, E. M. (eds) Life at Extremes: Environments, Organisms and Strategies for Survival. CAB International, Wallingford.

Ministerio de Medio Ambiente y Agua. 2017. Estrategia para la Gestión Integral de los Humedales y Sitios RAMSAR en Bolivia. pp 86. Ministerio de Medio Ambiente y Agua. La Paz.

More, K. D., L. Giosan, K. Grice, & M. J. Coolen. 2019. Holocene paleodepositional changes reflected in the sedimentary microbiome of the Black Sea. *Geobiology* 17(4): 1 -13.

Oren A. & X. W. Xu. 2014. The Family Hyphomicrobiaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Oren, A. 2015. Halophilic microbial communities and their environments. *Current Opinion in Biotechnology* 33: 119-124.

Orsi, W. D., M. J. Coolen, C. Wuchter, L. He, K. More, X. Irigoien, G. Chust, C. Johnson, J. D. Hemingway, M. Lee, V. Galy & L. Giosan. 2017. Climate oscillations reflected within the microbiome of Arabian Sea sediments. *Scientific Reports* 7: 1-12

Ramsar. 2020. La Lista de Humedales de Importancia Internacional

[.https://www.ramsar.org/es/nuevas/los-lipez-extension-de-sitio-ramsar-altoandino-en-bolivia](https://www.ramsar.org/es/nuevas/los-lipez-extension-de-sitio-ramsar-altoandino-en-bolivia)

Satomi M. & T. Fujii. 2014. The Family Oceanospirillaceae. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg.

Vandamme. P, J. F. Bernardet, P. Segers, K. Kersters & B. Holmes. 1994. New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* norn. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 44.

Weide, M. D., S. C. Fritz, C. A. Hastorf, M. C. Bruno, P. A. Baker, S. Guedron / W. Salenbien. 2017. A 6000yr diatom record of mid- to late Holocene fluctuations in the level of Lago Wiñaymarca, Lake Titicaca (Peru/Bolivia). *Quaternary Research* 1-14.

Whitman. W. B, D.C. Coleman & W. J. Wiebe. 1998. Prokaryotes: The unseen majority *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 95 (12) 6578-6583

Zhang. L, G. Guang, X. Tang & K. Shao. 2014. Can the freshwater bacterial communities shift

to the “marine-like” taxa?. *Journal of Basic Microbiology*. 54(11):1264-72

Ziesemer, K. A., A. E. Mann, K. Sankaranarayanan, H. Schroeder, A. T. Ozga, B. W. Brandt, E. Zaura, A. Waters-Rist, M. Hoogland, D. C. Salazar-García, M. Aldenderfer, C. Speller, J. Hendy, D. A. Weston, S. J. MacDonald, G. H. Thomas, M. J. Collins, C. M. Lewis, C. Horman & C. Warinner. 2015. Intrinsic challenges in ancient microbiome reconstruction using 16S rRNA gene amplification. *Scientific reports* 5:1-12.

7. SUPLEMENTARIOS

Tabla suplementaria 1. Familias halófilas y halosensibles identificadas antes de la depuración realizada en base a su abundancia relativa.

Familias de bacterias halófilas	Familias de bacterias halosensibles
Flavobacteraceae	Methylacidiphilaceae
Piscirickettsiaceae	Nostocaceae
Alteromonadaceae	Veillonellaceae
Rhodobacteraceae	Dehalococcoidaceae
Helicobacteraceae	Thermogemmatisporaceae
Campylobacteraceae	Geobacteraceae
Halomonadaceae	Aminiphilaceae
Carboxydocellaceae	Desulfonatronumaceae
Flexibacteraceae	Chlorobiaceae
Oceanospirillaceae	
Hyphomicrobiaceae	
Actinopolysporaceae	
Chromatiaceae	

Tabla suplementaria 2: Géneros descartados

Familia	Género	Razón por la que no se tomó en cuenta
Flavobacteraceae	<i>Flavobacterium</i>	Son bacterias aerobias, quimioorganótrofas que son comunes en ambientes de agua dulce y ambientes marinos (McBride 2014). Si bien muestra una correlación negativa con las abundancias de las diatomeas (Tabla 3, figuras suplementarias 4 y 8), sería muy complicado trabajar con estas bacterias a nivel de género.
	<i>Muricauda</i>	Es un género marino que tiene algunas especies como <i>Muricauda ruestringensis</i> que pueden vivir en condiciones anóxicas mientras que otras no (Bowman 2006). Este género no muestra ninguna correlación con abundancia relativa a la de las diatomeas planctónicas que prefieren ambientes de agua dulce (Tabla 3, figuras suplementarias 4 y 8)
	<i>Gillisia</i>	Bacterias halófilas aerobias (Bowman 2006), que muestran una correlación ligeramente positiva con las diatomeas (Tabla 3, figuras suplementarias 4 y 8)
	<i>Tenacibaculum</i>	Bacterias marinas aerobias (McBride), que muestran una correlación positiva con las diatomeas (Tabla 3, figuras suplementarias 4 y 8)
Rhodobacteraceae	<i>Rubellimicrobium</i>	Habitan aguas termales y ambientes marinos, aerobias estrictas, pero algunas especies no tolerantes al NaCl (Pujalte <i>et al.</i> 2014). Muestran una correlación positiva con las diatomeas dulceacuícolas, por lo cual se puede especular que el DNA encontrado es de bacterias que prefieren ambientes dulceacuícolas o poco salinos (Tabla 3, figuras suplementarias 5 y 8)
	<i>Phaeobacter</i>	Se compone de bacterias quimioheterótrofas aerobias obligadas, que habitan en ambientes marinos y se encuentran en la superficie (Pujalte <i>et al.</i> 2014). Muestran una correlación positiva con las diatomeas dulceacuícolas (Tabla 3, figuras suplementarias 5 y 9).
Chlorobiaceae	<i>Chloroherpeton</i>	Son bacterias verdes anoxigénicas de azufre que son fotolitoautótrofas y crecen bajo condiciones anóxicas en ambientes con acceso a luz y azufre reducido, son estrictamente anaerobias y fotótrofas obligadas y se encuentran en ambientes de agua estancada, ambientes marinos y agua dulce, también habitan sedimentos marinos (Imhoff 2014). La correlación de Kendall

		sugiere que hay una correlación positiva, pero esto puede que no sea correcto, por la ausencia en varios sedimentos (Tabla 3, figuras suplementarias 7 y 9).
Chromatiaceae	<i>Nitrosococcus</i>	Este género pertenece a la familia Chromatiaceae que se caracteriza por ser fotótrofa y que puede crecer bajo condiciones anóxicas (Imhoff 2014), pero no existe información sobre las características del género (Tabla 3, figuras suplementarias 6 y 9).
	<i>Chromatium</i>	Viven en ambientes de agua dulce sin requerimientos de sal, aunque algunas especies pueden soportar algunas concentraciones de sal bajas (Imhoff 2014). Tienen abundancias relativamente altas en los sedimentos de lagunas salinas, incluso en algunos casos más altas que en Chua. Este género puede vivir en condiciones anoxigénicas en presencia o ausencia de luz por lo cual es complicado identificar si es sedaDNA el que se observa en algunas muestras de sedimento. Se encuentra tanto en ambientes marinos como en ambientes de agua dulce (Imhoff 2014) (Tabla 3, figuras suplementarias 6 y 9).
	<i>Allochromatium</i>	Son dulceacuícolas y no necesitan sal para vivir, aunque algunas especies pueden soportar algunas concentraciones de sal bajas (Imhoff 2014). Puede vivir en ambientes anoxigénicos por lo cual el DNA puede ser de bacterias activas (Imhoff 2014) (Tabla 3, figuras suplementarias 6 y 9).
	<i>Thiocystis</i>	Tienen membranas fotosintéticas que crecen en condiciones anóxicas y pueden ser fotolitoautótrofas, quimioautótrofas o mixótrofas bajo condiciones microoxigénicas (Imhoff, Suling & Petri 1998). Se encuentran tanto en ambientes marinos como en ambientes de agua dulce (Imhoff 2014). Muestran una correlación positiva con las diatomeas dulceacuícolas (Tabla 3, figuras suplementarias 7 y 10).
Actinopolysporaceae	<i>Actinopolyspora</i>	Bacterias aerobias formadoras de esporas, quimioorganótrofas y halófilas que habitan ambientes hipersalinos (Goodfellow & Trujillo 2015). Muestran una correlación positiva con las diatomeas dulceacuícolas (Tabla 3, figuras suplementarias 6 y 10)
Oceanospirillaceae	<i>Marinomonas</i>	Bacterias aerobias halófilas (Satomi & Fujii 2014). Muestran una correlación positiva con las diatomeas dulceacuícolas (Tabla 3, figuras suplementarias 5 y 10)
Halomonadaceae	<i>Kushneria</i>	Bacterias estrictamente aerobias, moderadamente halófilas que crecen en un rango de NaCl de 0,5 a 12% (p/v) (de la Haba 2014). Muestran una correlación positiva con las diatomeas dulceacuícolas (Tabla 3, figuras suplementarias 5 y 10)
Hyphomicrobiaceae	<i>Pedomicrobium</i>	Bacterias quimioheterótrofas, quimilitoautótrofas, fotoheterótrofas y la mayoría prefiere un estilo de vida aerobia, aunque

		algunas pueden crecer en ambientes sin oxígeno; se encuentran en ambientes de agua dulce y ambientes salinos e hipersalinos (Oren & Xu 2014). Presentan una correlación ligeramente positiva con las diatomeas dulceacuícolas (Tabla 3 y figuras suplementarias 6 y 11)
Veillonellaceae	<i>Veillonella</i>	Bacterias anaerobias o microaerofílicas (Marchandin & Jumas 2014). Pese a que presentan una correlación positiva con las diatomeas (Tabla 3, figuras suplementarias 7 y 11) no pueden ser utilizadas como posible bioindicador porque el DNA encontrado probablemente sea de células activas.
Campylobacteraceae	<i>Campylobacter</i>	Bacterias patogénicas, comensales y de vida libre encontradas en aguas superficiales, subterráneas, tractos intestinales, urogenitales y cavidades orales de diversos animales, pueden ser microaerobias, anaerobias y aerobias (Lastovica, On & Zhang 2014). Presenta una correlación negativa pero se descarta el género porque el DNA estudiado puede pertenecer a células activas (Tabla 3, figuras suplementarias 5 y 11).

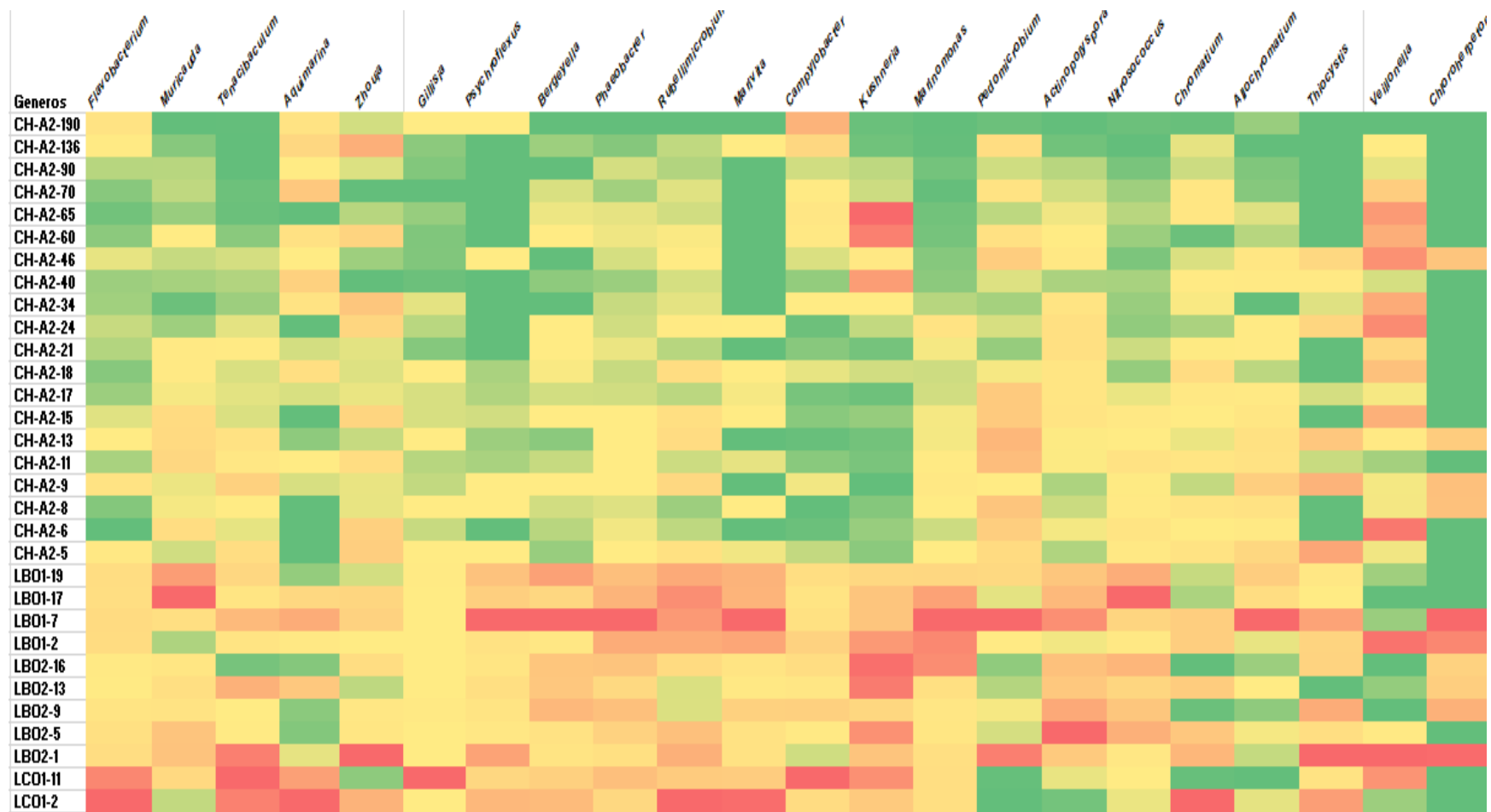


Figura suplementaria 1. Mapa de calor mostrando la abundancia relativa de los géneros de bacterias en los sedimentos. El rojo representa una abundancia alta, el amarillo una media y la verde una baja.

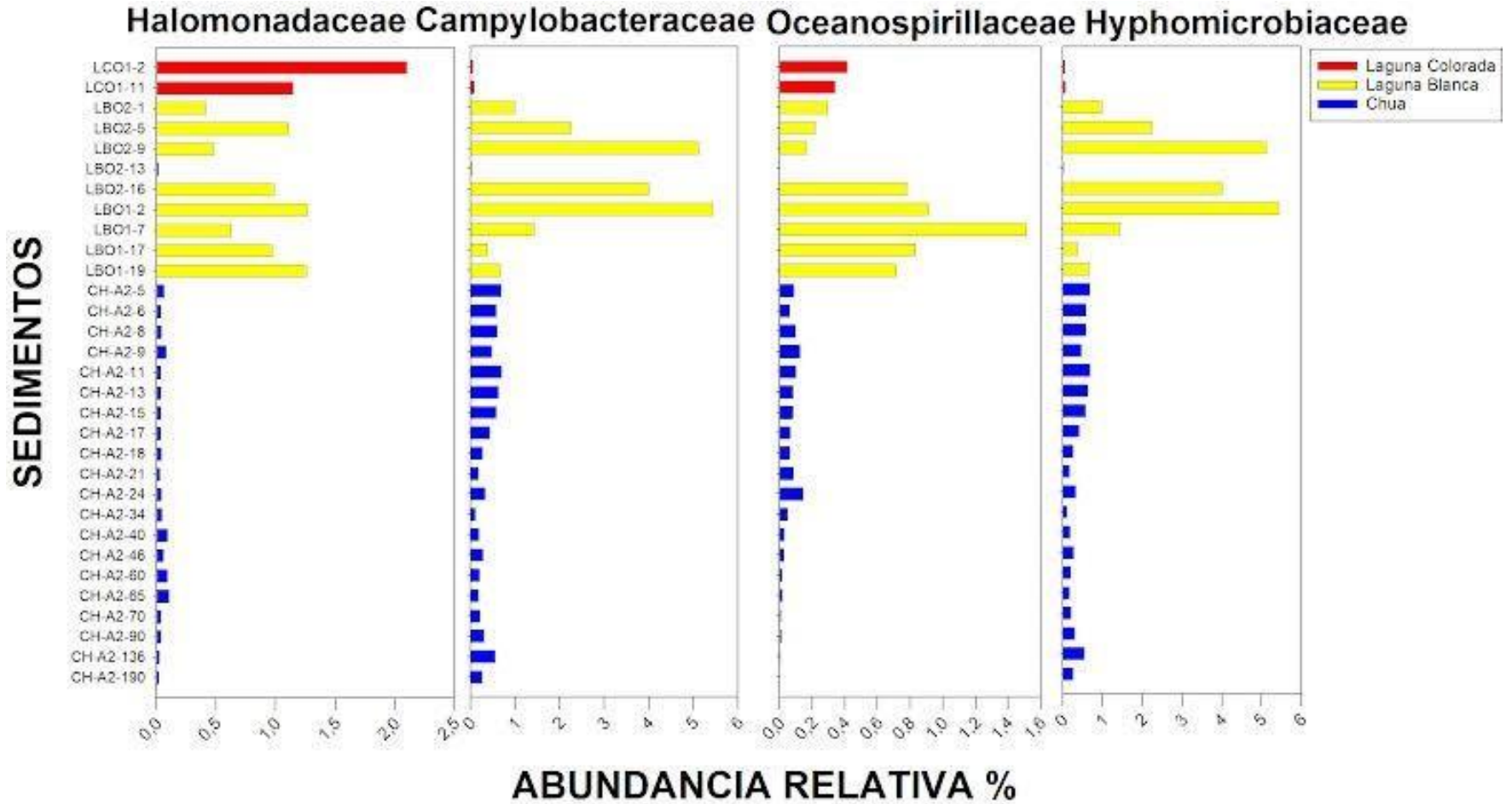


Figura suplementaria 2. Abundancia relativa de las familias Halomonadaceae, Campylobacteraceae, Oceanospirillaceae e Hyphomicrobiaceae en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

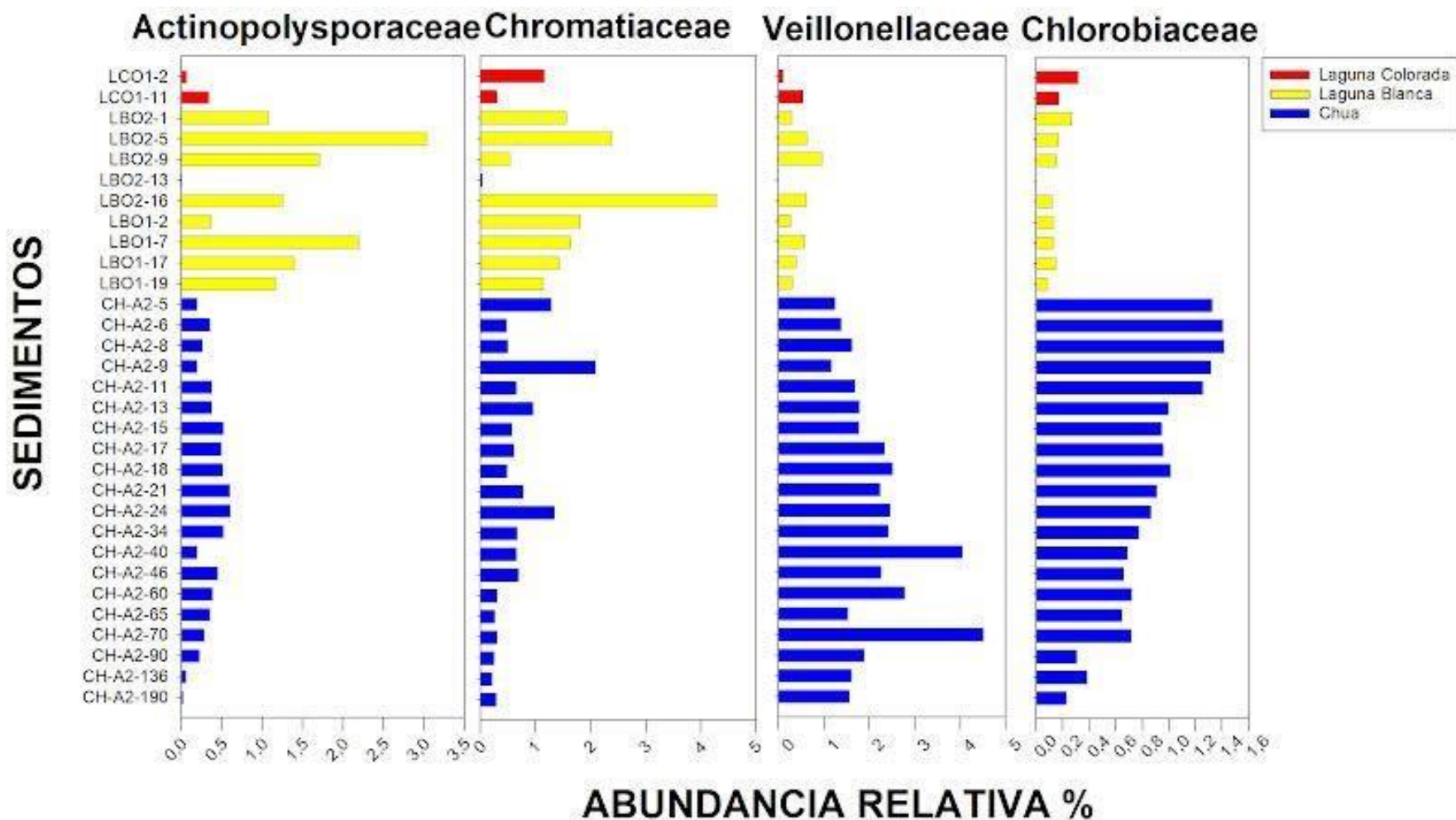


Figura suplementaria 3. Abundancia relativa de las familias Actinopolysporaceae, Chromatiaceae, Veillonellaceae y Chlorobiaceae en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

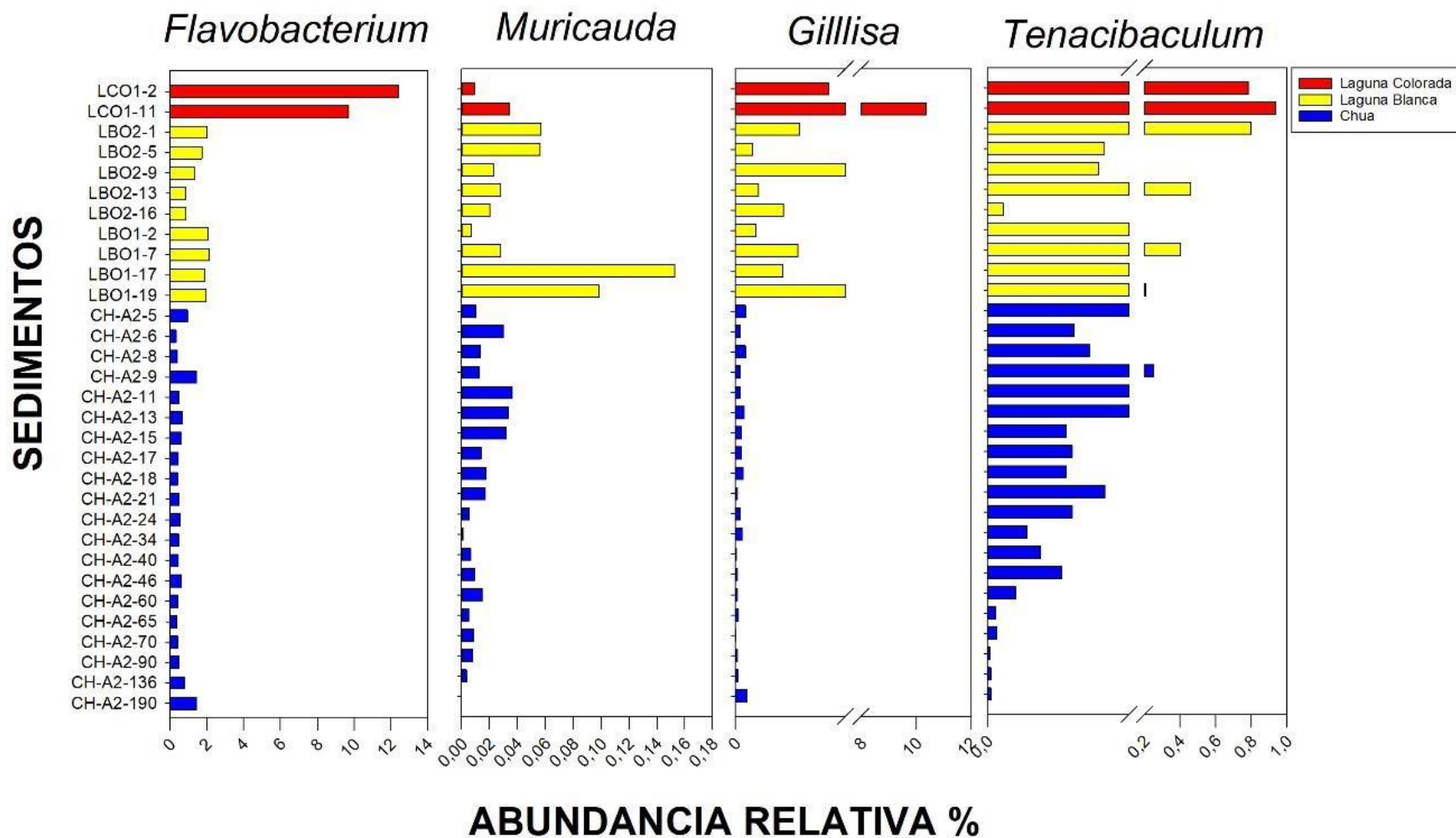


Figura suplementaria 4. Abundancia relativa de los géneros: *Flavobacterium*, *Muricauda*, *Gillisia* y *Tenacibaculum* en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

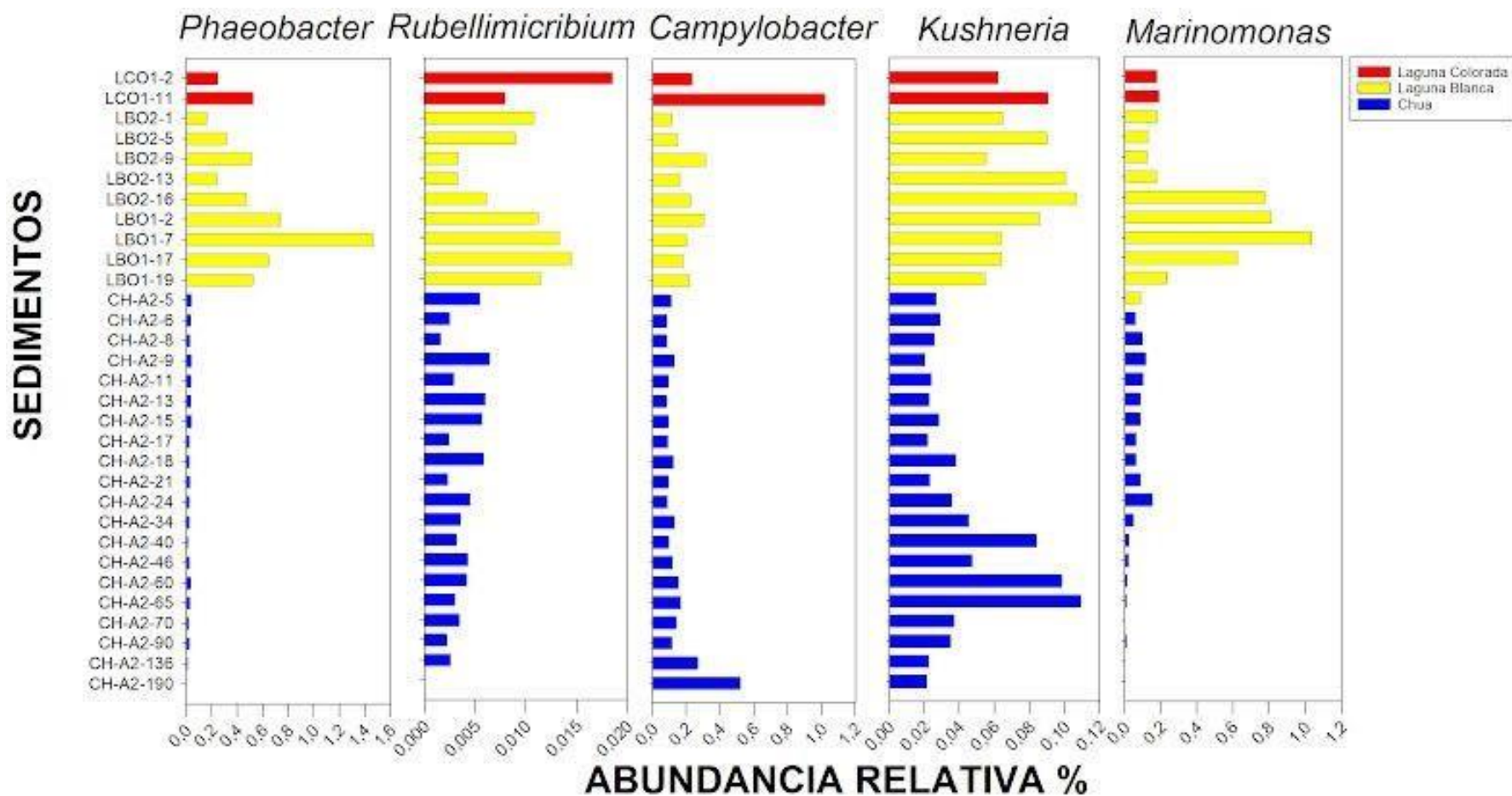


Figura suplementaria 5. Abundancia relativa de los géneros: *Phaeobacter*, *Rubellimicrobium*, *Campylobacter*, *Kushneria* y *Marinomonas* en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

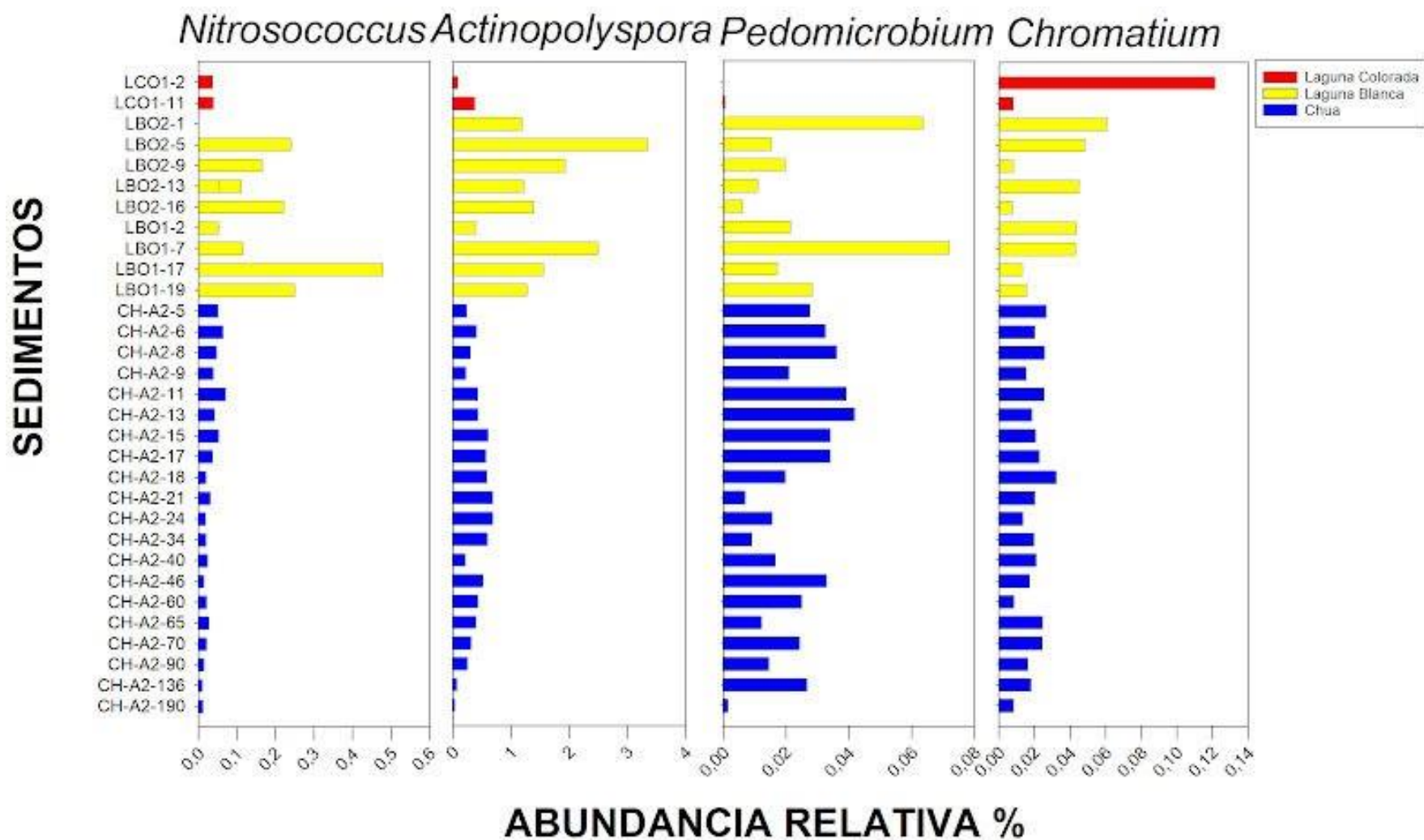


Figura suplementaria 6. Abundancia relativa de los géneros *Nitrosococcus*, *Actinopolyspora*, *Pedomicrobium* y *Chromatium* en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

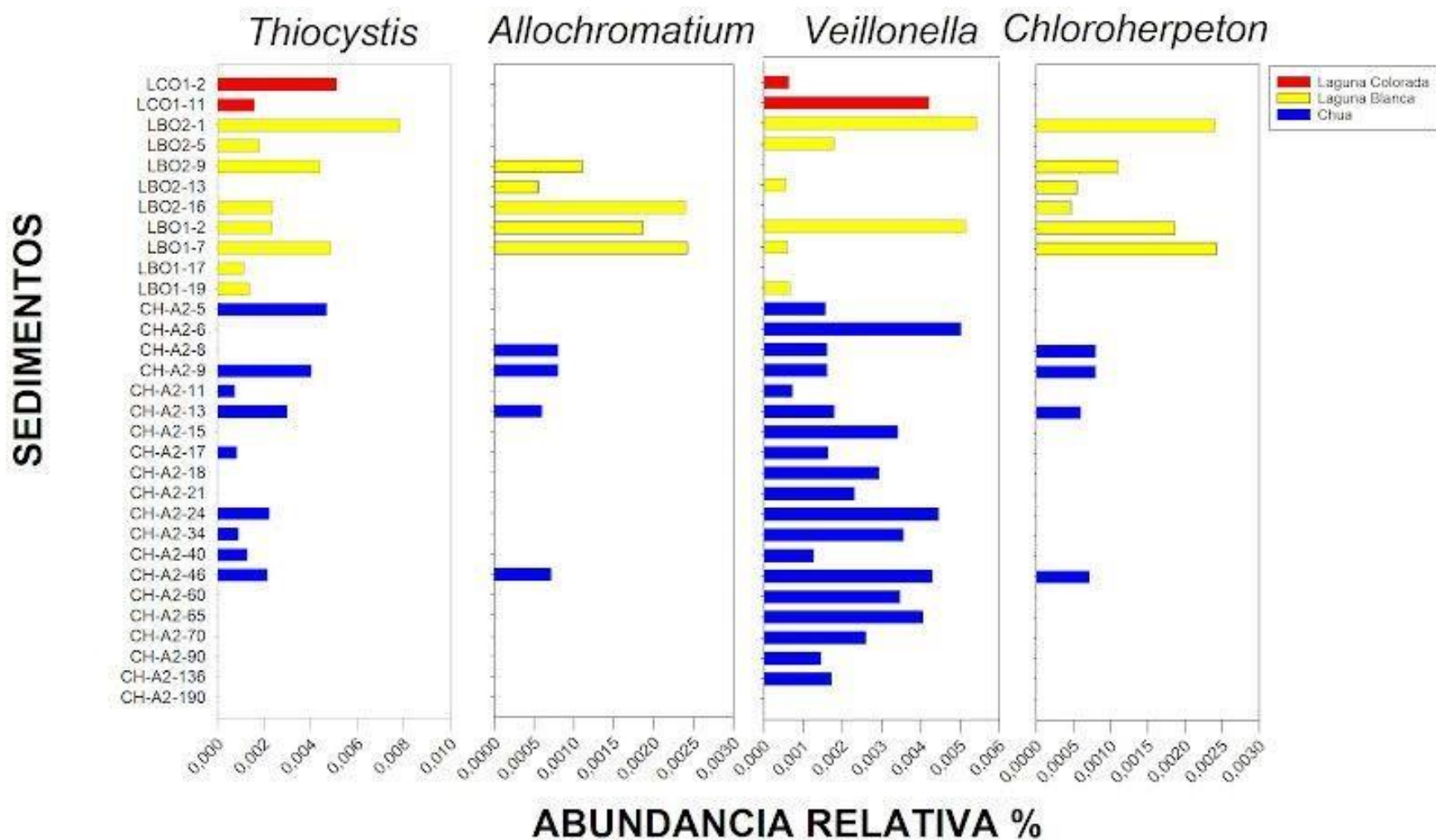


Figura suplementaria 7. Abundancia relativa los géneros *Thiocystis*, *Allochromatium*, *Veillonella* y *Chloroherpeton*, respectivamente en las muestras de sedimentos de la Laguna Colorada (rojo), Laguna Blanca (amarillo) y Chua (azul). Las primeras letras del código indican el cuerpo de agua seguido el lugar específico y los números indican la profundidad del sedimento (CH- Chua; LB- Laguna Blanca; LCO- Laguna Colorada).

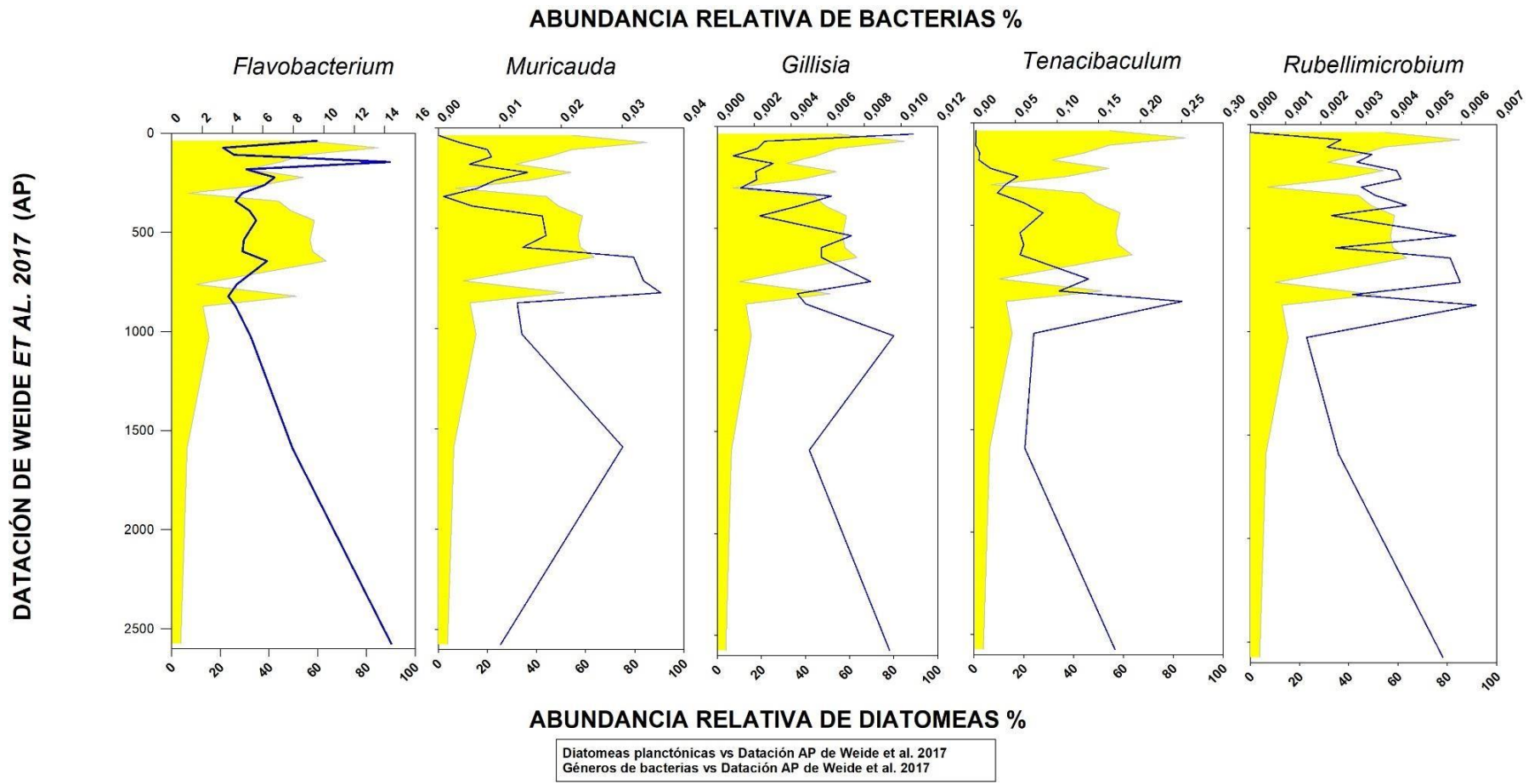


Figura Suplementaria 8. Comparación de crecimiento entre diatomeas planctónicas del estudio de Weide *et al.* (2017) con los géneros *Flavobacterium*, *Muricauda*, *Gillisia*, *Tenacibaculum* y *Rubellimicrobium* con la datación de Weide *et al.* (2017) en años AP como normalizador.

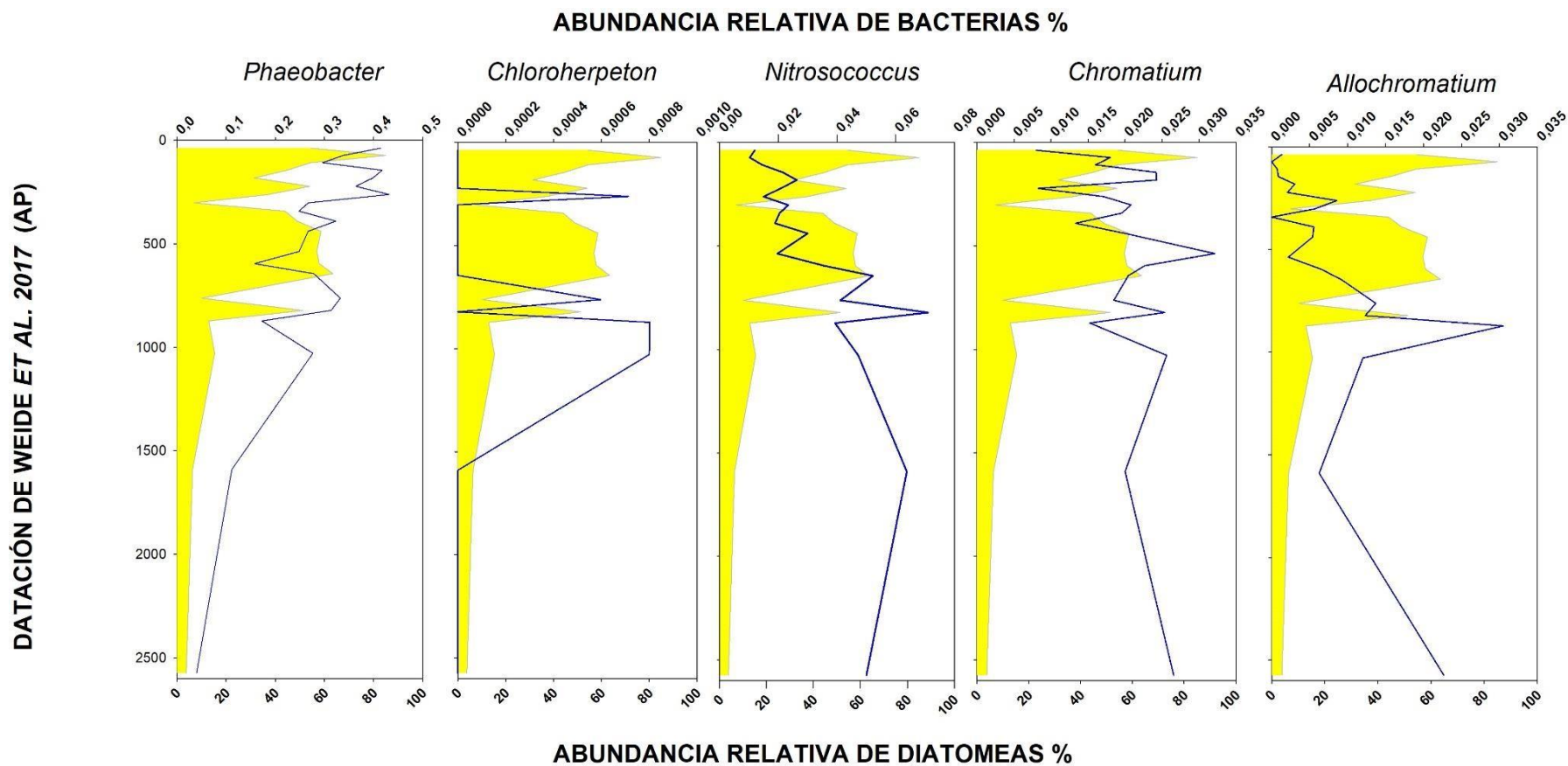
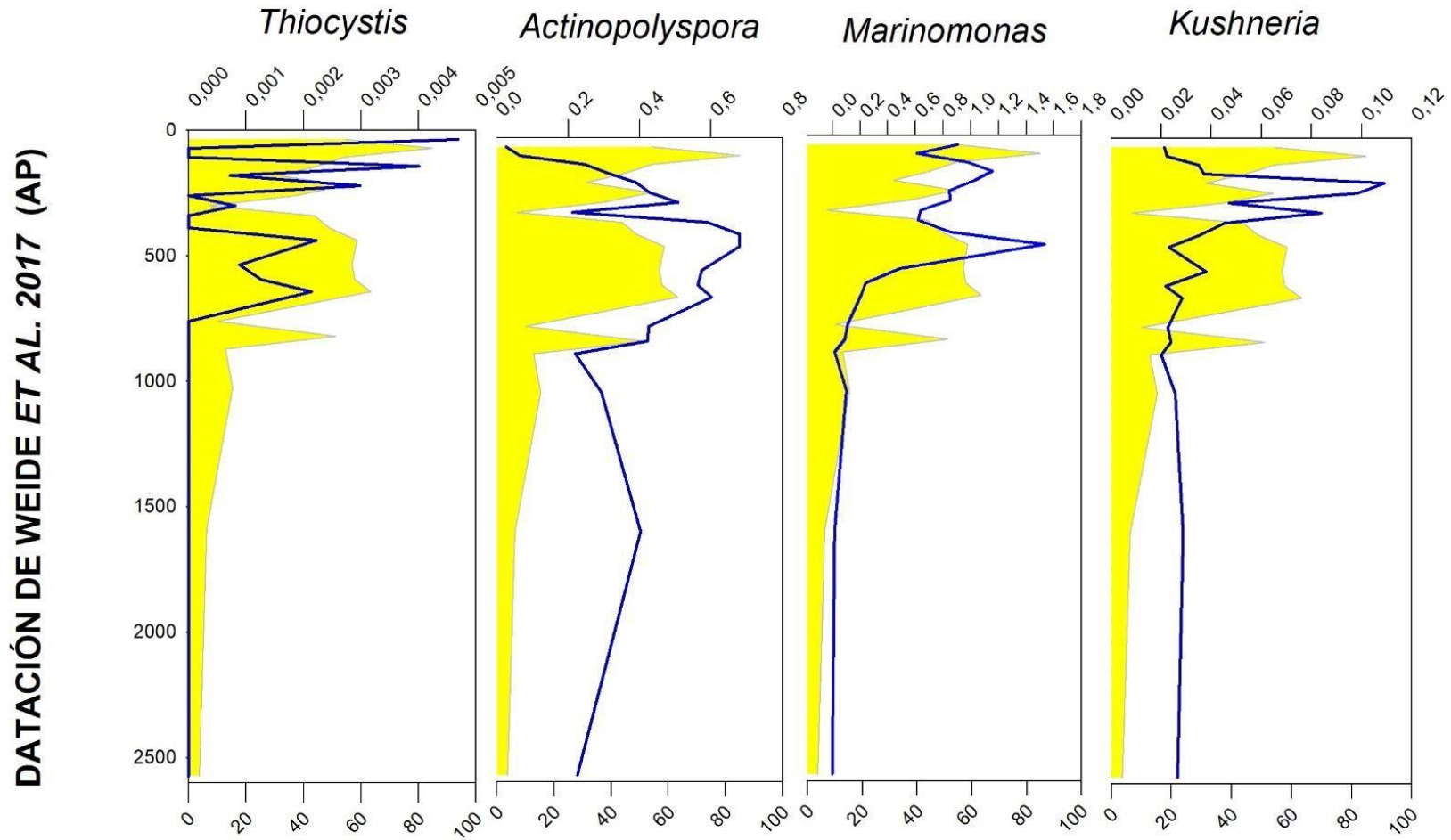


Figura suplementaria 9. Comparación de crecimiento entre diatomeas planctónicas del estudio de Weide *et al.* (2017) con los géneros *Phaeobacter*, *Chloroherpeton*, *Nitrosococcus*, *Chromatium* y *Allochromatium* con la datación de Weide *et al.* (2017) en años AP como normalizador.

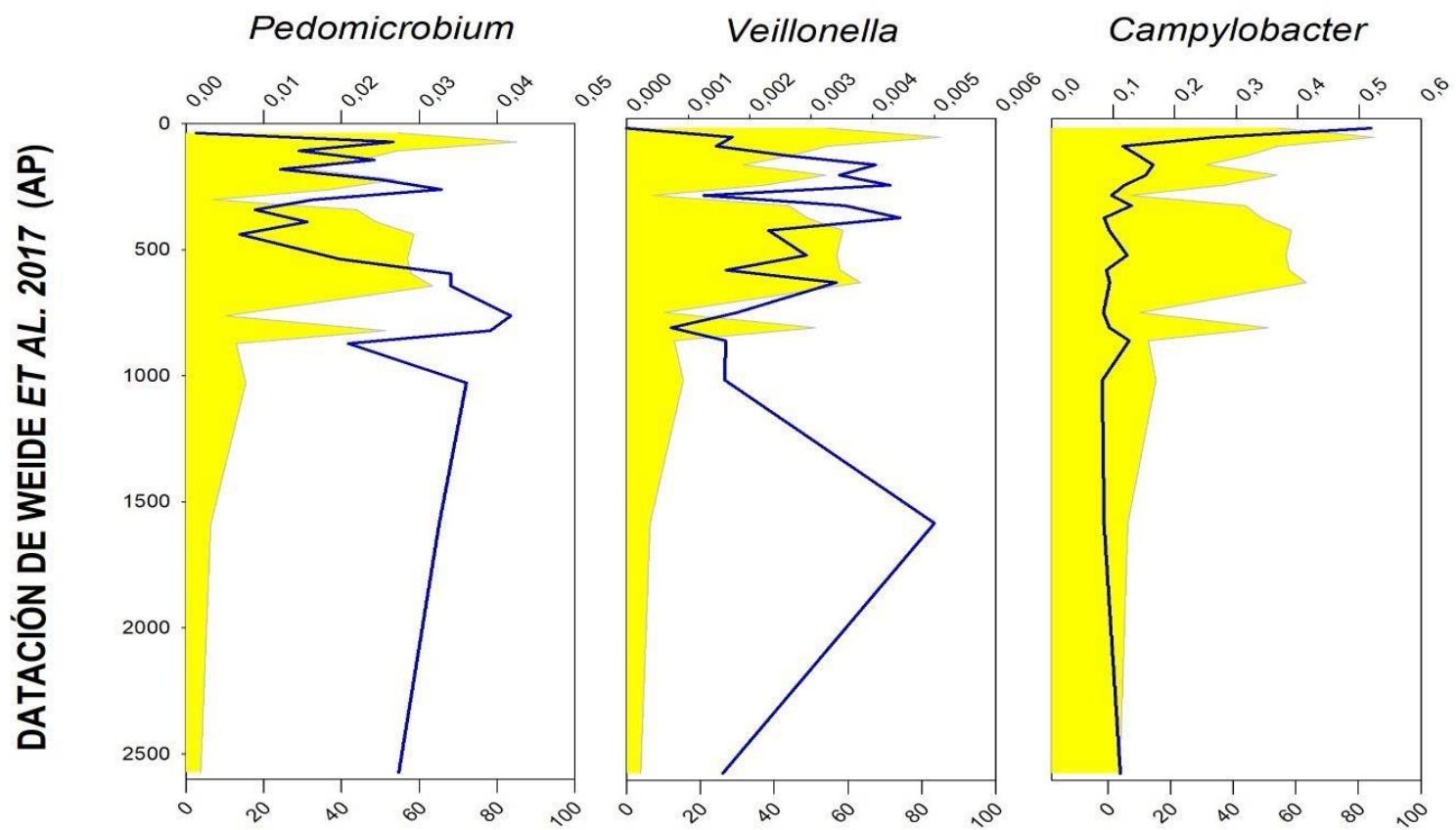
ABUNDANCIA RELATIVA DE BACTERIAS %



ABUNDANCIA RELATIVA DE DIATOMEAS %

Figura suplementaria 10. Comparación de crecimiento entre diatomeas planctónicas del estudio de Weide *et al.* (2017) con los géneros *Thiocystis*, *Actinopolyspora*, *Marinomonas*, y *Kushneria* con la datación de Weide *et al.* (2017) en años AP como normalizador.

ABUNDANCIA RELATIVA DE BACTERIAS %



ABUNDANCIA RELATIVA DE DIATOMEAS %



Figura suplementaria 11. Comparación de crecimiento entre diatomeas planctónicas del estudio de Weide *et al.* (2017) con los géneros *Pedomicrobium*, *Veillonella*, y *Campylobacter* con la datación de Weide *et al.* (2017) en años AP como normalizador.

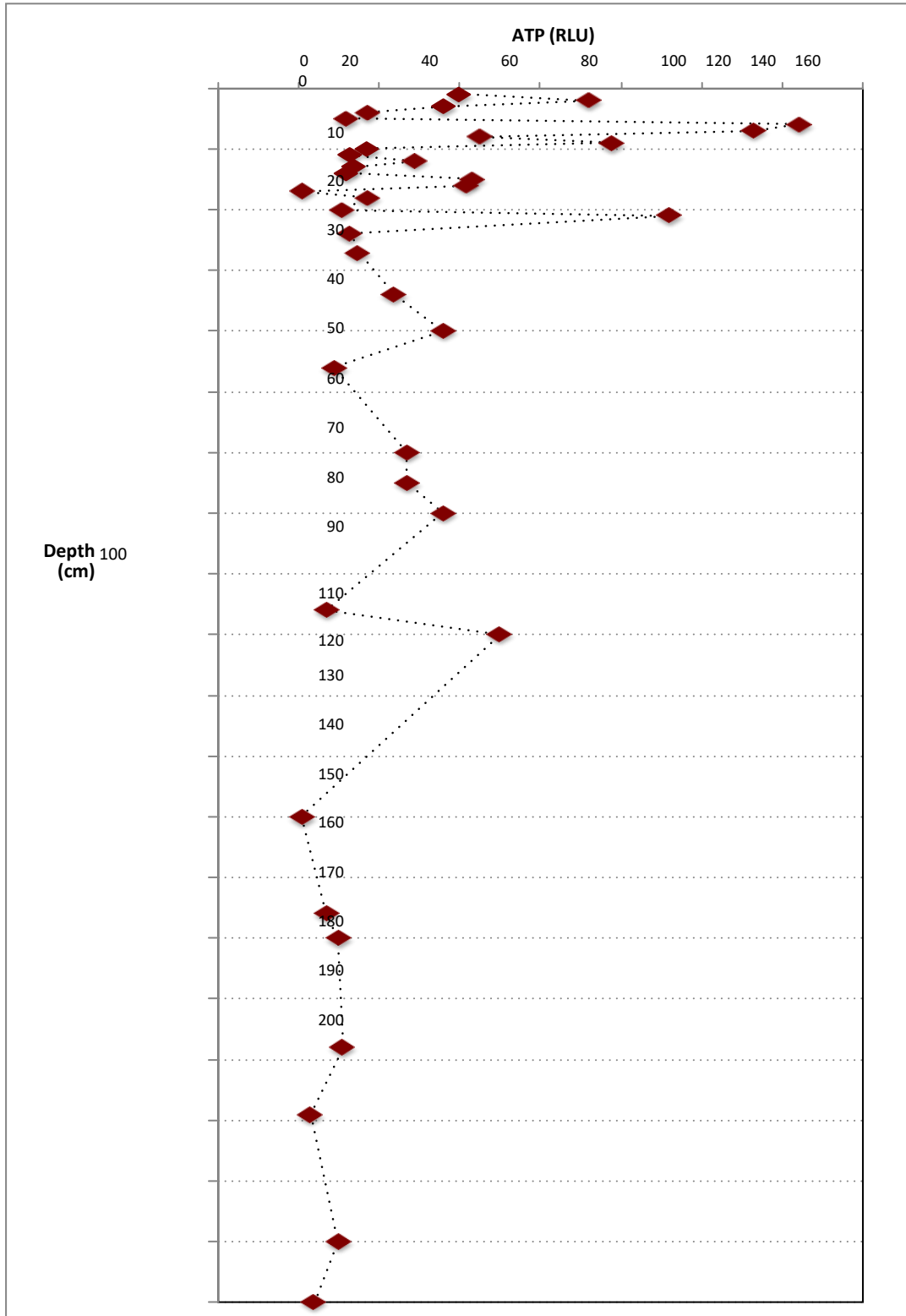


Figura suplementaria 12. Consumo de ATP a lo largo de las muestras de sedimento de Chua.