

PAPEL TRÓFICO DEL *MICROBIAL LOOP* EN UN LAGO DE INUNDACIÓN EN LA AMAZONÍA CENTRAL

The Trophic Role of Microbial Loop in an Amazonia Central Floodplain Lake

PEDRO CARABALLO^{1,2}, Ph. D.; BRUCE R. FORSBERG³, Ph. D.;
ROSSEVAL G. LEITE³, Ph. D.

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias. Grupo de Biodiversidad Tropical.
Universidad de Sucre. Sector Puerta Roja, Sincelejo, Colombia.
caraballo7@yahoo.com

² Programa de Pós-graduação em Ecologia INPA, Brasil.

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Brasil.

Presentado 11 de febrero de 2011, aceptado 4 de abril de 2011, correcciones 11 de noviembre de 2011.

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la participación de bacterias heterotróficas en el flujo de carbono en la cadena trófica de un lago de inundación amazónico, recolectas mensuales de estos microorganismos fueron realizadas durante el año hidrológico de diciembre de 2007 hasta noviembre de 2008, en las regiones litoral, pelágica y de macrófitas acuáticas del lago Catalão, en la Amazonia central brasilera. Las bacterias fueron multiplicadas *in vitro*, usando como sustrato carbono orgánico disuelto (COD) del lago en cada una de las regiones estudiadas, para posterior análisis de la abundancia de isotopos estables de carbono y nitrógeno. Estos datos fueron confrontados con los valores de COD de los cuatro periodos limnológicos del lago (seca, inundación, llena y bajada de aguas). En general se encontró que la fuente principal de carbono de las bacterias heterotróficas fue aquella de origen C₄, que presentó un aporte mínimo de 75%, en la medida en que el $\delta^{13}\text{C}$ de las bacterias presentó valor medio de $-17,72\text{‰} \pm 2,25$. Confrontando ese valor, con el $\delta^{13}\text{C}$ del zooplancton en el mismo periodo ($-33,04\text{‰} \pm 3,81$) se concluye que el aporte de las bacterias heterotróficas al flujo de carbono hacia niveles tróficos superiores en el lago estudiado es mínimo.

Palabras clave: Amazonas, isótopos estables, bacterioplancton, carbono, lago de inundación.

ABSTRACT

In order to evaluate the role of heterotrophic bacteria on carbon flow in food chains of an Amazonian floodplain lake, monthly collections of these organisms were made during the hydrological year from December 2007 to November 2008. Littoral, pelagic, and aquatic macrophyte regions of the Catalão Lake in Central Amazonia were sampled and bacteria were multiplied *in vitro*, using dissolved organic carbon (COD) of each one

of the regions studied as a substrate. The bacterial biomass obtained was used for stable isotope analyses of carbon and nitrogen. These data were confronted with COD values of the four hydrological periods of the lake (dry, rising, flood and fall). In general, it was found that the main source of carbon for heterotrophic bacteria was that of C4 origin, which presented a minimum contribution of 75% of bacterial biomass, to the extent that the bacteria $\delta^{13}\text{C}$ average value was $-17.72\text{‰} \pm 2.25$. Comparing this value with the $\delta^{13}\text{C}$ of zooplankton in the same period ($-33.04\text{‰} \pm 3.81$) permit concludes that the contribution of heterotrophic bacteria in the carbon flow to higher trophic levels in the Catalão lake is minimal.

Key words: Amazon, stable isotopes, bacterioplankton, carbon, floodplain lakes.

INTRODUCCIÓN

Aún para quien trabaja con fitoplancton, concentraciones del orden de millones de bacterias/mL, no son fáciles de asimilar, especialmente estando consciente de lo poco que sabemos sobre el papel de estos organismos en ecosistemas acuáticos tropicales. De hecho, en estos sistemas, las bacterias fueron siempre reconocidas por su papel en la descomposición de materia orgánica y remineralización de nutrientes inorgánicos, gracias al trabajo de Lindeman, 1942, que solo fue completamente aceptado en la década de los ochenta con la nueva visión que incluyeron los trabajos de Pomeroy, 1975, y Azam *et al.*, 1983. De allí en adelante, la introducción de nuevas técnicas como la microscopía de epifluorescencia, la genética y el análisis de isótopos estables ha facilitado la comprensión de la dinámica y funciones de estos microorganismos (Pomeroy *et al.*, 2007). La inclusión, después de muchos años de discusión, de algas cianofíceas en el dominio Bacteria (Woese *et al.*, 1990), le dio mayor cobertura a la ecología bacteriana, hasta el punto en que hoy es necesario definir el carácter trófico de estos microorganismos como autótrofos o heterótrofos.

El procesamiento de materia orgánica por parte de bacterias ya había sido estudiado por Pomeroy, 1974, cuando el término “*microbial loop*” (que no tiene un equivalente consensuado en español) fue incluido en la literatura científica por Azam *et al.*, 1983. A partir de entonces, la ecología del plancton experimentó un cambio de paradigma, al reconocer el papel de los microorganismos heterotróficos en el reciclaje de la materia orgánica disuelta (Fenchel, 1998) y además, la influencia de las cadenas tróficas bentónicas en el flujo de carbono en la región pelágica. De acuerdo con Azam *et al.*, 1983, se trata del proceso, por parte de las bacterias, del COD producido por las algas, seguido de un consumo de esas bacterias por parte de los protozoos, lo que permite la transferencia de energía para los niveles tróficos superiores y, por lo tanto, el control (junto con la producción primaria) de la productividad de los ecosistemas acuáticos (Kerner *et al.*, 2003). Estas bacterias heterotróficas son consumidas directamente por protozoos y zooplancton (Hobbie, 1988; Ventela *et al.*, 2002) cambiando la idea de una cadena trófica lineal, en la medida en que el *microbial loop* podía transferir una gran cantidad de energía (10-50% del carbono de la fotosíntesis) a través de la vía alternativa: COD - bacteria - protozoos (Azam *et al.*, 1983). Según Work *et al.*, 2005, el carbono de las bacterias representa 25% del total que pasa para el mesozooplancton y casi la mitad

del carbono que va para el microzooplancton y protozoos. Una de las consecuencias obvias de la inclusión del *microbial loop* en el análisis de una red trófica, es que existen más niveles tróficos en la cadena trófica de los que son generalmente aceptados, y que solo una pequeña fracción del carbono orgánico producido llega a los niveles tróficos superiores (Tranvik, 1992; Jansson *et al.*, 2000).

Por otro lado, los datos de Ducklow *et al.*, 1986, mostraron que el carbono bacteriano es transferido de forma ineficiente para los crustáceos, por lo que concluyeron que las bacterias realmente representan una pérdida (*sink*) en el flujo de carbono. Esos resultados son consistentes con los obtenidos específicamente en agua dulce por Wyllie y Currie, 1991, quienes demostraron una participación mínima de las bacterias heterotróficas en el flujo de carbono para los crustáceos del zooplancton, especialmente cuando esta comunidad es dominada por copépodos y sugieren que el resto del carbono es respirado o secuestrado en el sedimento, lo que coincide con el planteamiento de Melack y Forsberg, 2001. Todas estas investigaciones sugieren una participación mínima de bacterias heterotróficas en el flujo de carbono hacia crustáceos pero, es necesario considerar que si la biomasa bacteriana fuese del orden de magnitud del fitoplancton, el carbono bacteriano representaría un gran porcentaje del carbono asimilado por el zooplancton (Wyllie y Currie, 1991). De igual forma, estudios del flujo de carbono en la Amazonia sugieren una participación mínima de bacterias heterotróficas como fuente primaria de energía para la producción pesquera (Araujo-Lima *et al.*, 1986; Forsberg *et al.*, 1993; Benedito-Cecilio *et al.*, 2000).

De esta forma, confrontando las dos posiciones con relación al papel del *microbial loop* en el flujo de carbono, tiene mucho sentido la pregunta de Ducklow *et al.*, 1986: ¿es el *microbial loop* una filtración o un eslabón en el flujo de carbono? La respuesta, según Fenchel, 2008, es que el papel relativo del *microbial loop* no es invariable en el tiempo ni en el espacio. Considerando la variabilidad de los ecosistemas de várzea descrita por Junk *et al.*, 1989, es de esperarse que la interrelación entre la estructura de la comunidad ecológica, su estabilidad y los procesos que ocurren dentro del ecosistema, que constituyen la red trófica (De Ruiter *et al.*, 2005), cambien también en los períodos limnológicos de seca, inundación, llena y bajada de aguas, descritos por Rai y Hill, 1984. Así, podemos decir que la red trófica cambia en su composición de especies y en sus parámetros poblacionales, incluida la abundancia. Adicionalmente, en el nivel de individuos, en la red se presentan variaciones en crecimiento, tamaño y comportamiento (Caraballo y Hardy, 1995). Esto ocurre en las poblaciones de bacterias, que presentan diferentes tasas de crecimiento poblacional, permitiendo su coexistencia utilizando la misma fuente de energía (Tranvik, 1992). En este contexto, en los lagos de inundación los diferentes períodos asociados al pulso de inundación, son eventos de gran magnitud, que alteran la contribución relativa de materia orgánica autóctona y alóctona. Las investigaciones sobre el comportamiento de bacterias en la Amazonia se inician con el trabajo de Rai y Hill, 1980, quienes presentaron una clasificación trófica de 24 lagos de inundación, encontrando que las aguas blancas son más ricas, seguidas de las mixtas y en el nivel más bajo, las aguas negras. En esa línea y considerando que las bacterias heterotróficas tienen una función importante, reintegrando el COD liberado por algas en la forma de materia particulada, Amon y Benner, 1996a, estudiaron ese proceso en el Amazonas y encontraron que hay una preferencia por el COD de alto

peso molecular y en ese sentido, limitación de C en el crecimiento de bacterias heterotróficas porque la mayor parte es de carácter refractario (Amon y Benner, 1996b). Trabajando en un lago de aguas claras en Amazonas, Anesio *et al.*, 1997, encontraron mayor densidad de bacterias en el período de aguas bajas, lo que fue interpretado como consecuencia del efecto de la dilución; sin embargo, sugieren que hay utilización alternada entre el COD producido por el fitoplancton en la seca y el material alóctono en la llena. Utilizando el análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno, Waichman, 1996, demostró que las bacterias heterotróficas utilizan como fuente de energía carbono de origen C₄, que puede tener su origen en macrófitas acuáticas o en gramíneas de la várzea. En este contexto general, el objetivo de este estudio fue determinar la participación de bacterias heterotróficas en el flujo de carbono en el lago Catalão, un lago de inundación de aguas mistas, durante un año hidrológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue desarrollado en el lago Catalão (AM, Brasil) por su proximidad con la ciudad de Manaus y por el hecho de haber sido estudiado ampliamente en términos de su productividad primaria (Silva, 2004; Brito, 2006), calidad de agua y comportamiento de las larvas de peces (Leite *et al.*, 2006). El lago Catalão es un sistema fluvio-lacustre, próximo a la confluencia de los ríos Negro y Solimões y su posición geográfica es 3°09' 47" S y 59°54'29" W (Fig. 1).

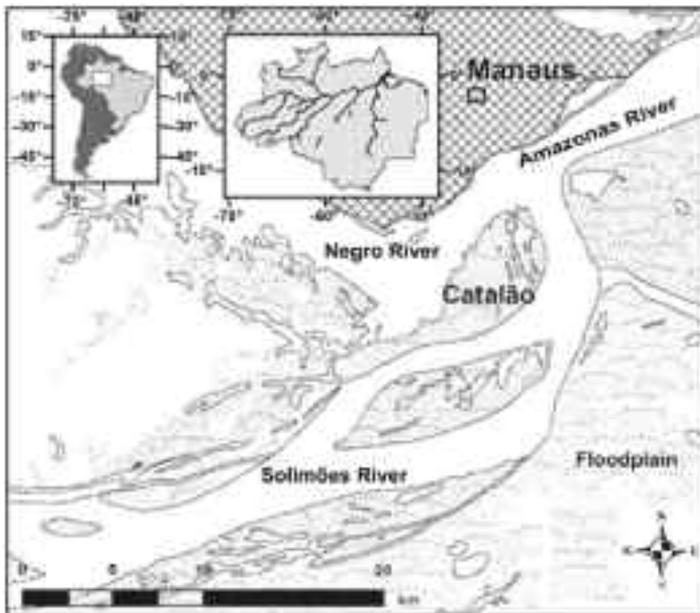


Figura 1. Mapa de la región del Lago Catalão, AM. Tomado de Neves dos Santos *et al.*, 2007.

El lago Catalão tiene forma semicircular durante el período de seca, cuando presenta área mínima, restringida a una pequeña región profunda llamada “pozón”, que recibe

poca influencia de los vientos por el relieve y la floresta circundante. Durante las aguas altas el lago adquiere forma de X, con un eje mayor en el sentido Norte-Sur donde el lago alcanza 3,0 km de largo y un eje menor de 1,2 km en el sentido NE-SW. El lago está influenciado por el río Negro al inicio de la inundación y por el Solimões (Amazonas) al final de la subida de aguas y durante las aguas altas. El río Negro es una fuente de aguas negras, diluidas y ácidas ($\text{pH} < 5$), con conductividad eléctrica en torno de 8-10 S/cm y baja capacidad tampón (alcalinidad $< 0,05$ meq/L), teniendo como característica relevante la gran presencia de solutos orgánicos de tipo húmico, responsables de su coloración oscura (Sioli, 1984). Por otro lado, el río Solimões es una fuente de aguas blancas, con alta turbidez y carbonatadas, con alcalinidad en torno de 0,5-0,6 meq/L, conductividad eléctrica entre 60- 90 $\mu\text{S}/\text{cm}$, y pH próximo de la neutralidad (Sioli, 1984). Las características físicas y químicas de las aguas del lago Catalão permiten caracterizarlo como un sistema de aguas mixtas (Almeida y Melo, 2011).

La composición vegetal de las márgenes del Catalão puede variar de acuerdo con la fase del ciclo hidrológico. Durante los periodos de aguas bajas, no hay macrófitas acuáticas en el lago. En la subida de aguas y llena, las áreas marginales son compuestas por gran cantidad de macrófitas acuáticas emergentes, especialmente *Echinocloa polystachia*, *Paspalum fasciculatum*, *P. repens* y *Oryza perennis* (Junk y Piedade, 1997). En este período, esas plantas son las principales responsables por la formación de grandes bancos de vegetación flotante.

De acuerdo con Brito, 2006, el lago Catalão es oligotrófico durante los períodos de subida de aguas y máximos niveles, mesotrófico durante la seca. La abundancia de fitoplancton en el lago tiene relación directa con la conductividad, presentándose las mayores concentraciones en la seca (Almeida y Melo, 2011). El zooplancton del lago no ha sido estudiado en términos de su composición; sin embargo, basados en el análisis del contenido estomacal de larvas de peces, Silva, 2004, encontró dominancia de cladóceros, con mayoría de *Chydorus* sp. lo que puede ser consecuencia de la selección visual que hacen las larvas de peces entre los componentes del zooplâncton. Estudios de ecología reproductiva de peces sugieren que las áreas de confluencia de los ríos de aguas claras o negras con los ríos de aguas blancas, son utilizadas para la reproducción de especies de Characiformes migradoras (Leite *et al.*, 2006).

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES

Los muestreos fueron hechos mensualmente, entre diciembre de 2007 y noviembre de 2008 en las regiones litoral, pelágica y de macrófitas acuáticas. Esta estrategia representa al menos tres muestras para cada período limnológico estudiado. Las muestras de agua fueron tomadas en la región eufótica, establecida como tres veces la profundidad del disco de Secchi, en la medida en que parte de esa agua era utilizada para recolectar fitoplancton y zooplancton. Un tubo de PVC de 10 cm de diámetro, con un dispositivo de cierre en la punta fue utilizado en las regiones pelágica y litoral, al tiempo que dentro del tapete de macrófitas acuáticas también fue utilizado un balde plástico y el agua era previamente filtrada con malla de 200 μm para retirar material vegetal.

La obtención de biomasa bacteriana para el análisis de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, siguió el método empleado por Coffin *et al.*, 1989, que se basa en la utilización de COD del agua estudiada, como medio de cultivo para obtener una biomasa adecuada de bacterias

heterotróficas, como explicado en extenso por Caraballo, 2009. De esta forma, 990 mL de agua del lago, filtrados con nucleopore 0,2 μm , son el sustrato para 10 mL de un inóculo con bacterias. Para obtener 990 mL de agua filtrada con 0,2 μm , fue necesario filtrar primero con redes de 30 μm y 10 μm y luego por una batería de filtros así: 1,2 μm , 0,7 μm , 0,6 μm e finalmente con filtro nucleopore blanco de 0,2 μm para preparar el medio de cultivo. 10 mL del agua filtrada con filtro GF/F para preparar el inóculo. Sustrato e inóculo fueron guardados en frascos oscuros debidamente sellados con cinta plástica, e incubados en la oscuridad por 48 horas a 30 °C para posterior filtración con filtro GF/F pre-quemado a 450 °C durante una hora. En este punto es necesario filtrar todo el material en la medida en que muchas bacterias pasan a través de un filtro GF/F. El filtro fue secado en estufa a 55 °C por 24 horas y guardado en desecador al vacío, para su posterior envío al laboratorio de Isótopos Estables de la Universidade Estadual de Sao Paulo (UNESP) en Botucatu (SP, Brasil), donde fueron hechos dos análisis de cada muestra. El porcentaje de participación de las plantas C4 fue calculado usando el método de dilución isotópica (Martinelli *et al.*, 1988), agrupando fitoplancton y macrófitas acuáticas C3 en un extremo y macrófitas acuáticas C4 en el otro (Forsberg *et al.*, 1993; Waichman 1996; Caraballo *et al.*, 2011), utilizando como valores de las fuentes, los obtenidos por Caraballo, 2010.

Las muestras para análisis de COD fueron tomadas de la misma muestra general, usada para zooplancton, fitoplancton y bacterias. Fueron filtrados 50 mL de agua con filtros GF/F pre-quemados. La muestra de agua para análisis de COD fue guardada en frascos de vidrio oscuros (también prequemados), fijando la muestra con ácido sulfúrico concentrado. Los análisis fueron realizados en el laboratorio de Ecología Acuática de la Universidade Federal de Juiz de Fora (MG), utilizando un analizador de carbono Teckmar-Dohrmann, modelo Phoenix 8000. Como información complementaria, mediciones mensuales de la profundidad y la transparencia (medida con el disco Secchi) fueron realizadas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis no paramétrico fue empleado por la heteroscedasticidad de los datos. En ese sentido, el test de Kruskal-Wallis fue usado para probar la significancia de las diferencias en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las bacterias en los diferentes ambientes estudiados. El nivel de significancia empleado para los test fue de $\alpha=0,05$.

En general la variabilidad de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ es presentada como la media mensual, más o menos la desviación estándar, los valores máximos y mínimos y la amplitud, definida como la diferencia entre los valores máximos y mínimos.

RESULTADOS

La influencia alternada de los ríos Negro y Solimões sobre el lago Catalão fue evidenciada por la observación directa de la entrada de agua del río Negro (última semana de noviembre) y del Solimões (última semana de abril). En la figura 2, se presenta el comportamiento de la profundidad y transparencia del lago durante el periodo de estudio, siendo evidente una disminución de la transparencia en el mes de marzo, que no está asociada con la entrada de agua del río Solimões por la parte norte del lago.

No es posible afirmar que no hubo otra entrada menor a través de la floresta, que no fue detectada. De cualquier forma, hay tres valores mínimos de transparencia, de los cuales los de diciembre y noviembre son asociados con la baja profundidad del lago en el periodo seco, y la de abril puede ser consecuencia de la entrada de agua del río Solimões en el sistema. Las mayores transparencias por su parte están asociadas con el periodo de aguas negras del lago (enero y febrero), cuando inicia la entrada de aguas del río Negro.

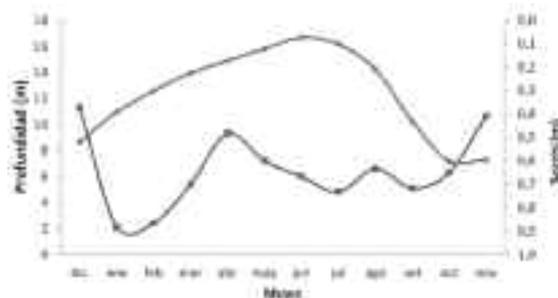


Figura 2. Variación de la profundidad del lago Catalão (línea negra) y de la transparencia del agua (línea punteada) medida con el disco de Secchi, entre octubre de 2007 y diciembre de 2008.

El COD presentó una relación directa con la profundidad media del lago, durante el periodo de estudio (Fig. 3A). Las menores concentraciones fueron observadas durante la bajada de aguas de 2007 y las mayores en la llena de ese año, cuando fue medido un valor medio de 15,55 mg/L en la región pelágica. Con relación a las regiones, los menores valores fueron observados entre las macrófitas acuáticas, si bien el menor valor fue observado en la región litoral durante el periodo de bajada de aguas (3,87 mg/L).

EL $\delta^{13}\text{C}$ Y $\delta^{15}\text{N}$ POR MES DE ESTUDIO EN LAS TRES REGIONES

Durante el año de estudio, los valores medios y desviación estándar del $\delta^{13}\text{C}$ (‰) en el bacterioplancton fueron de $-15,8 \pm 1,6$ para la región litoral, $-14,9 \pm 1,2$ para la región pelágica y de $-15,6 \pm 1,9$ para la región de macrófitas acuáticas, sin presentarse diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellas. La mayor amplitud de valores fue observada en la región de macrófitas acuáticas (5,9‰), como resultado de altos valores en mayo y mínimos en julio, lo que también ocurre en la región pelágica (Fig. 3B). En ese sentido, la región litoral presentó los mayores valores en diciembre y los menores en noviembre. Son relevantes, el enriquecimiento en ^{13}C que ocurrió en el mes de marzo, cuando el lago tuvo características parecidas con el río Negro y su posterior empobrecimiento en abril, cuando el río Solimões entró en el lago. Igual ocurrió en el mes de mayo, que presentó un enriquecimiento fuerte, comparado con los valores de abril, para después presentar un fuerte empobrecimiento en las muestras de junio y julio.

El porcentaje medio de participación de las fuentes de carbono C4 fue de 87%, 92% y 86% para las regiones litoral, pelágica y de macrófitas acuáticas respectivamente (Fig. 3C).

Los valores medios de $\delta^{15}\text{N}$ fueron de $5,9‰ \pm 5,6$ en la región litoral, $6,6‰ \pm 4,4$ en la pelágica y $5,2‰ \pm 4,3$ en las macrófitas acuáticas, no siendo observada diferencia

significativa entre los valores ($p > 0,05$). Como puede ser observado en la figura 3C, hubo a lo largo del año valores extremos de $\delta^{15}\text{N}$, siendo la mayor amplitud, aquella determinada en la región litoral, con valor máximo en junio (16,26‰) y mínimo en agosto (-0,68‰).

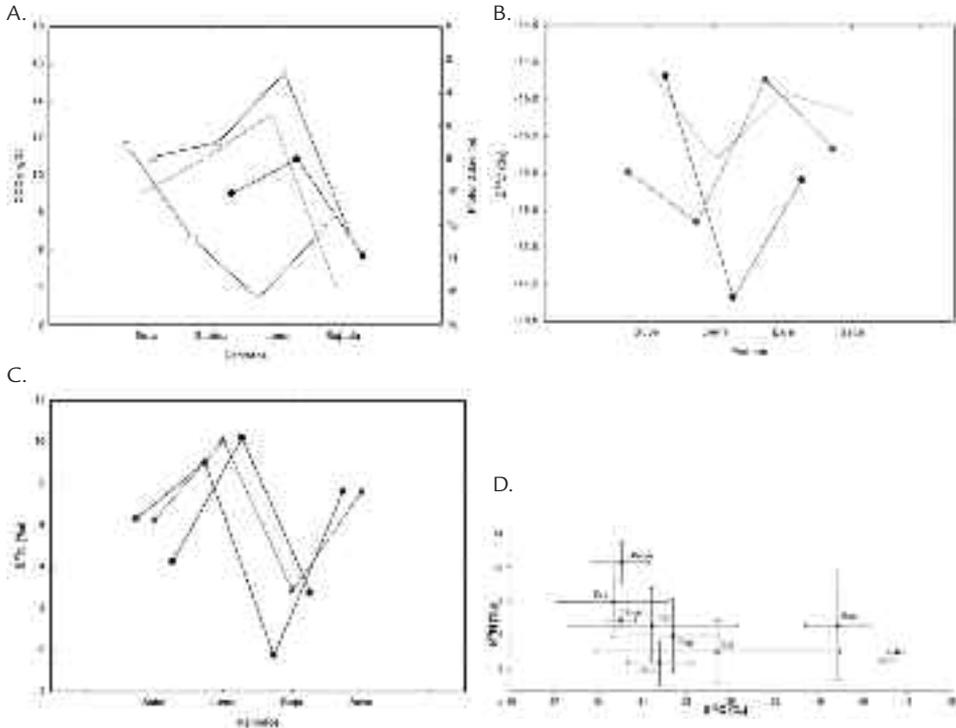


Figura 3. A. Valores medios de COD en las regiones litoral (rombo), pelágica (triángulo) y de macrófitas acuáticas (círculo), en los cuatro períodos limnológicos entre diciembre de 2007 y noviembre de 2008, confrontados con la profundidad media (cuadrado) en el lago Catalão. B. Valores medios de $\delta^{13}\text{C}$ (‰) de bacterias heterotróficas. C. Valores medios de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de las bacterias heterotróficas. D. Relación entre los valores medios (punto) y desviación estándar (barras) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las bacterias heterotróficas con sus posibles consumidores y fuentes de energía.

RELACIONES TRÓFICAS DE BACTERIAS HETEROTRÓFICAS

Como fuente principal de carbono de las bacterias heterotróficas fueron definidas las macrófitas acuáticas de tipo C4 (Fig. 3D). Paradójicamente, la participación de las plantas C4 fue mayor en la región pelágica (92%) que entre las propias macrófitas (86%), dominadas por *Paspalum* spp. y *Echinochloa* spp. Con relación a los detritos, solo puede ser sugerida una relación distante en cuanto a su participación como fuente del carbono de las bacterias heterotróficas ($-17,72\text{‰} \pm 2,25$) teniendo presente su marca isotópica media de $-25,89\text{‰} \pm 8,29$. El carbono del grupo de plantas C3 más negativo, el fitoplancton, presentó una participación global máxima de 25% en el carbono de las bacterias, siendo que cuando los datos fueron analizados por regiones y entre las

plantas C3, donde fueron incluidas también las macrófitas acuáticas, la participación máxima fue en la región litoral, con 24% y mínima en la región pelágica, con 18%. Entre los posibles consumidores de bacterias heterotróficas se encuentran el zooplancton, larvas de insectos y larvas de peces (Caraballo, 2009). Cuando esos grupos fueron analizados isotópicamente, no se encontró evidencia de estar asimilando carbono originado de plantas C4. La marca isotópica del zooplancton (-33,04‰, $\pm 3,81$) está muy próxima a la del fitoplancton, de la misma forma que la de las larvas de peces, e insectos de la familia Corixidae (Fig. 3D).

DISCUSIÓN

El COD es una de las principales formas de carbono orgánico en la biosfera y constituye la principal fuente de energía para bacterias heterotróficas (Farjalla *et al.*, 2006; Pomeroy *et al.*, 2007). En ese sentido, la propuesta de Coffin *et al.*, 1994, de usar el COD del local de estudio, para evaluar a través de los isótopos estables el comportamiento trófico de esos microorganismos es inteligente y práctica. Si la producción bacteriana varía con los períodos limnológicos (Anesio *et al.*, 1997) y eso es consecuencia de variaciones en la concentración de nutrientes y la composición de COD (Farjalla *et al.*, 2006), las variaciones en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de la biomasa bacteriana obtenida usando el COD como sustrato, indican la asimilación selectiva y variable de los diferentes componentes del COD que son isotópicamente diferentes.

Las concentraciones de COD en el lago Catalão fueron inversamente proporcionales a la profundidad, lo que sugiere un aporte adicional de COD para el lago durante el período de subida de aguas. Este aporte es previsto, en el concepto del pulso del río (Junk *et al.*, 1989), en la medida en que el pulso de inundación promueve acoplamiento entre los diferentes ecosistemas del complejo río - planicie de inundación. Sin embargo, por la complejidad de este intercambio de materiales, es difícil identificar la fuente de ese carbono adicional. O sea, ese COD es una mezcla del que viene en el río, de la floresta inundada y de la propia várzea, lo que representa diversas fuentes de carbono C3 y C4. De hecho, es esa mezcla de compuestos en el COD, la que favorece la diversidad y las altas tasas de crecimiento bacteriano (Farjalla *et al.*, 2009b). Si bien ninguna relación fue observada entre la concentración de COD y la marca isotópica de las bacterias, lo que sugiere una preferencia de las bacterias por el carbono C4.

Basados en los resultados obtenidos en un lago amazónico de aguas claras, Anesio *et al.*, 1997, sugieren que durante el período de aguas bajas, el COD de origen fitoplanctónico podría ser la base del crecimiento bacteriano y en las aguas altas, cuando la abundancia bacteriana disminuye, la base energética sería una forma menos lábil con origen en el plano inundable. Esto no fue lo observado en nuestro análisis del balance de C en el bacterioplancton, donde la contribución de carbono del fitoplancton y las plantas C3, en general, tuvo un máximo de 25%. Por su parte Waichman, 1996, también encontró poco carbono C3 y predominancia de carbono de plantas C4 en el CO_2 liberado por el bacterioplancton en un lago de aguas blancas, a pesar que el COD en el sistema era predominantemente de origen C3. Esa autora interpretó sus resultados contraintuitivos como la consecuencia del consumo preferencial del carbono C4 por bacterias heterotróficas. En el mismo sentido, Quay *et al.*, 1992, trabajando en el río Amazonas,

encontró valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -30‰ y -28‰ para el COD, próximo a la media para plantas C3, mientras que el carbono inorgánico disuelto (CID) en el mismo sistema era compuesto de aproximadamente 40% carbono de plantas C4, indicando alta selectividad del bacterioplancton fluvial para el COD de esta fuente.

De esta forma, en el sentido de la existencia de una preferencia metabólica de las bacterias heterotróficas, Farjalla *et al.*, 2009b, sugieren que aún siendo una fuente importante de energía, las sustancias húmicas que representan 50-80% del COD, no son un sustrato importante para crecimiento bacteriano. De hecho, en los resultados de nuestro estudio no fue observada diferencia significativa entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$ durante el año hidrológico (Fig. 3B), a pesar que el lago paso por períodos de influencia absoluta del río Negro (diciembre a marzo) y del río Solimões (junio a agosto). El consumo de COD de origen C4 por parte de las bacterias representa la principal ruta de aprovechamiento de ese carbono en el Amazonas, considerando que hasta hoy se conoce solo una especie de pez (*Schizodon fasciatum*) que consume este tipo de plantas (Forsberg *et al.*, 1993). Así, Melack y Forsberg, 2001, ya habían sugerido que después de ser consumido por las bacterias heterotróficas, el COD de origen C4 es liberado para la atmósfera como CO_2 o CH_4 , lo que podría ayudar a explicar la anomalía que se presenta en el balance del ciclo de carbono global observada por Richey *et al.*, 2002. Con relación al comportamiento de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las bacterias a lo largo del año hidrológico, es necesario hacer referencia al comportamiento de la columna de agua en los diferentes períodos limnológicos. En general, solo durante la seca el lago es polimíctico, siendo meromíctico el resto del año, con excepción de los breves períodos en que el lago es afectado por el fenómeno de la “frige” (Caraballo, 2010). De esta forma es posible visualizar mejor los resultados presentados en la figura 3C, donde los mayores valores de $\delta^{15}\text{N}$ fueron medidos cuando la columna de agua era inestable, ya sea por la fuerza de los vientos en la seca o por la baja temperatura superficial (frige) en la llena. Por otro lado, los bajos valores del $\delta^{15}\text{N}$ medidos en los períodos de fuerte estabilidad en la columna de agua pueden ser indicativos de fuerte fijación de N_2 , que está asociada con la alta concentración de cianobacterias fijadoras de N_2 (Gu *et al.*, 2006), de allí los valores negativos observados en agosto. Esa variabilidad en las marcas isotópicas de carbono e nitrógeno fueron observadas también por Liu *et al.*, 2007, como consecuencia del tifón que afecta el nordeste de Taiwan, donde la contribución porcentual de tres fuentes de carbono varió de 83-12-5 sin el tifón, para 9-63-28 bajo las condiciones de ese fenómeno climatológico.

El comportamiento estacional del $\delta^{15}\text{N}$ podría ser una respuesta a una variación en los hábitos alimenticios, pero esto no se encaja con el comportamiento del $\delta^{13}\text{C}$, o una variación bioquímica del recurso. En general las plantas prefieren el isótopo liviano del amonio como fuente de nitrógeno, por lo que ante un aumento de esa forma de nitrógeno en el medio, ocurre acumulación del isótopo pesado por la discriminación a la que es sometido, lo que trae como consecuencia altos valores de $\delta^{15}\text{N}$ en plantas.

RELACIONES TRÓFICAS DE LAS BACTERIAS HETEROTRÓFICAS

Las principales causas de mortalidad bacteriana son la predación selectiva por parte de protozoos, lisis celular por acción de virus e incluso la limitación de sustrato (Wetzel, 2001). En el contexto de nuestra investigación, la primera de las hipótesis, es la más

relevante, porque lleva implícita un flujo de carbono para los niveles tróficos superiores, una vez que los protozoos serían consumidos por el zooplancton. Ese tipo de comportamiento no fue el observado en este estudio y de acuerdo con los datos, el zooplancton usa como fuente principal de energía el fitoplancton y en menor proporción a los detritos, en una vía directa que ya fue detectada por Scherwass *et al.*, 2005.

Por lo que parece, las bacterias heterotróficas consumen el COD lábil que está disponible, especialmente aquel de origen C4 y lo respiran preferencialmente, como fue sugerido por Melack y Forsberg, 2001, y por Farjalla *et al.*, 2009a. En ese sentido, hay evidencia de la muerte masiva de bacterias (65%) sin que sean consumidas (Oevelen *et al.*, 2006), siendo el carbono liberado por la lisis reciclado como COD.

La consistencia entre los valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados en este trabajo y los de Waichman, 1996, confrontados con datos igualmente consistentes de las marcas isotópicas de zooplancton (Lewis *et al.*, 2001) y fitoplancton, sirven para afirmar que las bacterias heterotróficas, como componente fundamental del *microbial loop*, no representan una vía relevante en el flujo de carbono hacia los niveles tróficos superiores de la cadena trófica acuática, en los lagos de várzea amazónicos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia por el apoyo logístico y cooperación. A los proyectos CTPETRO y PIATAM IV, por el apoyo financiero de la investigación. A la Universidad de Sucre, Colombia, por la comisión de estudios concedida a Pedro Caraballo y a la Capes-Fapeam por la beca de estudios. Al personal del laboratorio de Ecología Acuática da Universidade Federal de Juiz de Fora (MG, Brasil), por la lectura de las muestras de COD.

BIBLIOGRAFÍA

ALMEIDA FF, MELO S. Phytoplankton community structure in an Amazon floodplain lake (Lago Catalão, Amazonas, Brazil). *Neotrop biol conserve.* 2011;6(2):112-12.

AMON RMW, BENNER R. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol Oceanogr.* 1996a;41(1):41-51.

AMON RMW, BENNER R. Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system. *GCA.* 1996b; 60(10):1783-1792.

ANESIO AM, ABREU PC, ESTEVES FA. Influence of the Hydrological Cycle on the Bacterioplankton of an Impacted Clear Water Amazonian Lake. *Microb Ecol.* 1997;34(1):120-129.

ARAUJO-LIMA CARM, FORSBERG BR, VICTORIA R, MARTINELLI LA. Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. *Science.* 1986;234:1256-1258.

AZAM F, FENCHEL T, FIELD JG, GRAY JS, MEYER-REIL LA, *et al.* The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser.* 1983;10(3):257-263

BENEDITO-CECILIO E, ARAUJO-LIMA C, FORSBERG BR, BITTENCOURT MM, MARTINELLI LC. Carbon sources of Amazonian fisheries. *Fisheries Manag Ecol.* 2000; 7(4):305-314.

BRITO JG. Influência do pulso de inundação sobre variáveis limnológicas de um lago de várzea da Amazônia Central, lago Catalão (tesis de maestría) Manaus, Brasil: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas; 2006.

CARABALLO P, HARDY E. Fluctuación diaria de las poblaciones de *Daphnia gessneri* HERBST y *Ceriodaphnia cornuta* SARS (CRUSTACEA-CLADOCERA) en el lago Calado (Amazonas, Brasil). Bol Cient INPA. 1995;(3):79-96.

CARABALLO P, SANCHEZ-CARABALLO A, FORSBERG B, LEITE R. Crescimento populacional e análise isotópica de *Diaphanosoma spinolosum* e *Ceriodaphnia cornuta* (Crustacea: Cladocera), alimentadas com diferentes frações de seston natural. Acta. Sci. Biol. Sci. Maringá. 2011;33(1):11-19.

CARABALLO P. O papel do *microbial loop* na dinâmica trófica de um lago de várzea na Amazônia Central (tesis de doctorado) Manaus, Brasil: Curso de Ecologia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA; 2010.

CARABALLO P. Uso de isótopos estables de carbono y nitrógeno para estudios de ecología acuática. Bol Cient CIOH. 2009;(27):176-187.

COFFIN RB, CIFUENTES LA, ELDERIDGE PM. The use of carbon isotopes to study microbial processes in estuaries. En: Lajtha K, Michener RH, editors. Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science, Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1994. p. 222-240.

COFFIN RB, FRY B, PETERSON BJ, WRIGHT RT. Carbon isotopic composition of estuarine bacteria. Limnol Oceanogr. 1989;34(7):1305-1310.

DE RUITER P, WOLTERS V, MOORE J, WINEMILLER K. Food Web Ecology: Playing Jenga and Beyond. Science. 2005;309:68-70.

DUCKLOW HW, PURDIE DA, WILLIAMS PJJ, DAVIES JM. Bacterioplankton: A sink for carbon in a coastal marine plankton community. Science. 1986;232:865-867.

FARJALLA VF, AMADO AM, SUHETT AL, MEIRELLES-PEREIRA F. DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems. Environ Sci Pollut Res. 2009a;16:531-538.

FARJALLA VF, AZEVEDO DA, ESTEVES FA, BOZELLI RL, ROLAND F, *et al*. Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake. Microb Ecol. 2006;52:334-344.

FARJALLA VF, MARINHO CC, FARIA BM, AMADO AM, ESTEVES FA, *et al*. Synergy of fresh and accumulated organic matter to bacterial growth. Microb Ecol. 2009b;57:657-666

FENCHEL T. Marine plankton food chains. Ann Rev Ecol Syst. 1988;19:19-38

FENCHEL T. The *microbial loop* - 25 years later. J Exp Mar Biol Ecol. 2008;(366):99-103.

FORSBERG BR, ARAUJO-LIMA CARM, MARTINELLRI LA, VICTORIA R, BONASSI JA. Autotrophic carbon sources for fish of the central Amazon. Ecology. 1993;74(3):643-652.

GU B, CHAPMAN AD, SCHELSKE CL. Factors controlling seasonal variations in stable isotope composition of particulate organic matter in a soft water eutrophic lake. Limnol. Oceanogr. 2006;51:2837-2848.

HOBBIE JE. A comparison of the ecology of planktonic bacteria in fresh and salt water. Limnol Oceanogr. 1988;(33):750-764.

JACOBSEN TR, AZAM F. Role of bacteria in copepod fecal pellet decomposition, colonization, growth rates and mineralization. *B Ma Sci.* 1984;35:492-502.

JANSSON M, BERGSTRÖM A, BLOMQVIST P, DRAKARE S. Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology.* 2000;81(11):3250-3255.

JUNK WJ, BAYLEY PB, SPARKS RE. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Can Spec Publ Fish Aquat Sci.* 1989;106:110-127.

JUNK WJ, PIEDEDE MT. Biomass and Primary-production of herbaceous plant communities in the Amazon floodplain. *Hydrobiologia.* 1997;263:155-162.

KERNER M, HOHENBERG H, ERTL S, RECKERMANNK M, SPITZY A. Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. *Nature.* 2003;422:150-154.

LEITE R, SILVA JV, FREITAS CE. Abundância e distribuição das larvas de peixes no Lago Catalão e no encontro dos rios Solimões e Negro, Amazonas, Brasil. *Acta Amaz.* 2006;36(4):557-562.

LEWIS WM, HAMILTON SK, RODRIGUEZ MA, SAUNDERS JF, LASI MA. Foodweb analysis of the Orinoco floodplain based on production estimates and stable isotope data. *J N Am Benthol Soc.* 2001;20(2):241-254.

LINDEMAN R. The trophic Dynamic aspect of ecology. *Ecology.* 1942;23(4):399-418.

LIU KK, KAO SJ, WEN LS, CHEN KL. Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter and biogeochemical processes in the eutrophic Danshuei Estuary in northern Taiwan. *Sci Tot Environ.* 2007;382:103-120.

MARTINELLI LA, VICTORIA RL, NATSUI E, FORSBERG BR, MOZETO AA. Utilização das variações naturais do $\delta^{13}\text{C}$ no estudo de cadeias alimentares em ambientes aquáticos: princípios e perspectivas. *Acta Limnol Brasil.* 1988;11:859-882.

MELACK JM, FORSBERG B. Biogeochemistry of Amazon floodplain lakes and associated wetlands. En McClain ME, Victoria RL, Richey JE, editors. *The Biogeochemistry of the Amazon Basin and its Role in a Changing World.* Oxford University Press; 2001. p. 235-276.

NEVES DOS SANTOS R, FERREIRA EJS, AMADIO DS. Effect of seasonality and trophic group on energy acquisition in Amazonian fish. *Ecol Freshw Fish.* 2007;17(8):340-349.

OEVELEN D, MIDDELBURG JJ, SOETAERT K, MOODLEY L. The fate of bacterial carbon in an intertidal sediment: Modeling an *in situ* isotope tracer experiment. *Limnol Oceanogr.* 2006;51(3):1302-1314.

POMEROY LR, WILLIAMS PJ, AZAM F, HOBBIJE JE. The *microbial loop*. *Oceanography.* 2007;20(2):28-33.

POMEROY LR. The ocean food web, a changing paradigm. *BioScience.* 1974;24:499-504.

QUAY PD, WILBUR DO, RICHEY JE, HEDGES, JI, DEVOL AH. Carbon cycling in the Amazon River: Implications from the $\delta^{13}\text{C}$ compositions of particles and solutes. *Limnol Oceanogr.* 1992;37(4):857-871.

RAI H, HILL G. Classification of Central Amazon lakes on the basis of their microbiological and physico-chemical characteristics. *Hydrobiologia.* 1980;72:85-99

RAI H, HILL G. Primary production in the Amazonian aquatic ecosystem. En: H.

Sioli editor, The Amazon. Limnology and landscape ecology of a mighty river and its basin. Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht. 1984.

RICHEY JE, MELACK JM, AUFDENKAMPE AK, BALLESTER VM, LAURA LH. Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO₂. *Nature*. 2002;416:618-620.

SCHERWASS A, FISCHER I, ARNDT H. Detritus as a potential food source for protozoans: Utilization of fine particulate plant detritus by a heterotrophic flagellate, *Chilomonas paramecium*, and a ciliate, *Tetrahymena pyriformis*. *Aquat Ecol*. 2005;39:439-445.

SILVA JVV. A utilização da microfauna associada a vegetação inundada, pelas larvas de peixes na Amazônia Central (tesis de maestría). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia-Universidade Federal do Amazonas. Manaus, AM. Brasil; 2004.

SIOLI H. Editor. The Amazon. Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin. Dr. W. Junk Publishers. Monographiae Biologicae. 1984.

TRANVIK LJ. Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop. *Hydrobiologia*. 1992;229:107-114.

VENTELA A, WIACKOWSKI K, MOILANEN M, SAARIKARI V, VUORIO K, SARVALA J. The effect of small zooplankton on the microbial loop and edible algae during a cyanobacterial bloom. *Freshw Biol*. 2002;(47):1807-1819.

WAICHMAN AV. Autotrophic carbon sources for heterotrophic bacterio-plankton in a floodplain lake. *Hydrobiologia*. 1996;341:27-36.

WETZEL RG. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. San Francisco: Academic Press, 2001

WOESE C, KANDLER O, WHEELIS M. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4576-4579.

WORK K, HAVENS K, SHARFSTEIN B, EAST T. How important is bacterial carbon to planktonic grazers in a turbid, subtropical lake?. *J Plankton Res*. 2005;27(4):357-372.

WYLIE J, CURRIE D. The relative importance of bacteria and algae as food sources for crustacean zooplankton. *Limnol Oceanog*. 1991;36(4):708-728.