

Calidad microbiológica del agua del lago volcánico Quilotoa. Cotopaxi-Ecuador

Microbiological quality of the water of the Quilotoa volcanic lake. Cotopaxi- Ecuador

González, Marco¹.; Acuña, Jessica¹.; Escobar, Jessica¹.; Escobar, Sandra².; Araque, Judith^{1,3}.; Andueza, Felix^{1,3}

¹Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador

²Escuela Superior Politecnica del Chimborazo. Riobamba. Ecuador

³Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela

E. mail de correspondencia: fdandueza@uce.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4415-6579>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5821-3429>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5935-9104>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3347-0282>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6423-9622>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9046-8883>

FECHA DE RECEPCIÓN: 26 ABRIL 2021

FECHA DE ACEPTACIÓN: 6 JUNIO DE 2021

RESUMEN

Introducción. El agua de los lagos volcánicos no es estéril, en ella se ha adaptado a través de milenios una microbiota con diversas capacidades metabólicas. La diversidad microbiana de los lagos volcánicos en Ecuador ha sido poco estudiada y aún se desconoce su abundancia y riqueza.

Objetivo. El objetivo del presente estudio fue conocer la calidad microbiológica del agua del lago Quilotoa, situado en la Provincia de Cotopaxi-Ecuador. **Materiales y Metodos.** Se realizaron dos muestreos durante el año 2019, recolectando un total 32 muestras. La calidad microbiológica se cuantificó utilizando la técnica de filtración por membrana en agar R₂A para bacterias heterótrofas, agar eosina azul de metileno para coliformes, agar manitol salado para *Staphylococcus*, agar cetrimide para *Pseudomonas* y agar Sabouraud con cloranfenicol para hongos. **Resultados.** Los resultados promedios fueron para bacterias heterótrofas de 2,00 x 10² UFC/mL; *Pseudomonas* 7,00 x 10 UFC/mL, *Staphylococcus* 3,80 x 10 UFC/mL y hongos 1,40 x 10 UFC/mL. No se detectó la presencia de bacterias coliformes. **Conclusiones.** Los grupos microbianos presentes en bajo número son indicativos de una microbiota característica adaptada a las condiciones fisicoquímicas de este lago. Se concluye que se trata de un lago con una población microbiana escasa lo que indicaría una buena calidad microbiológica.

Palabras Claves: Quilotoa. Lago Volcánico. Calidad. Microbiología.

ABSTRACT

Introduction. The water of volcanic lakes is not sterile, native microbiota shows different metabolic capabilities established over millennia. The microbial diversity of volcanic lakes in Ecuador have been little studied and their abundance and richness are still unknown. **Objective.** The objective of this study was to know the microbiological quality of water of Lake Quilotoa, located in the Province of Cotopaxi-Ecuador. **Materials and methods.** Two samplings were carried out during 2019, collecting a total of 32 samples. Microbiological quality was quantified using the membrane filtration technique on R₂A agar for heterotrophic bacteria, eosin blue methylene agar for coliforms, salty mannitol agar for *Staphylococcus*, cetrimide agar for *Pseudomonas* and Sabouraud agar with chloramphenicol for fungi. **Results.** The average results were for heterotrophic bacteria 2.00×10^2 CFU/mL, *Pseudomonas* 7.00×10 CFU/mL, *Staphylococcus* 3.80×10 CFU/mL and fungi 1.40×10 CFU/mL. The presence of coliform was not detected. **Conclusions.** The microbial groups present in low numbers are indicative of a characteristic microbiota adapted to the physicochemical conditions of this lake. It is concluded that it is a lake with a few microbial populations, which might indicate a good microbiological quality.

Keywords: Quilotoa. Volcanic Lake. Quality. Microbiology.

INTRODUCCIÓN

Los lagos volcánicos son ecosistemas muy particulares, dado que muchos de ellos presentan características ambientales, fisicoquímicas y químicas extremas. En los últimos años se han venido desarrollando investigaciones en diversas regiones del mundo para determinar las condiciones fisicoquímicas y químicas de estos ambientes y determinar cómo las mismas han influido en la biodiversidad microbiana que se ha adaptado a estas condiciones adversas a través de milenios, y que hoy pueden ser fuente de biomoléculas con diversas aplicaciones biotecnológicas, industriales y medicinales, así como de servir de modelo para el estudio del origen de la vida en la tierra (Cole, 1968; Mapelli et al., 2015; Arce et al., 2017; Rasuk et al., 2017; Albarracín et al., 2020; Aszalós et al., 2020; Padišák & Naselli-Flores, 2021).

Por otra parte, el estudio del agua de estos sistemas lacustres puede ayudar a comprender la dinámica geoquímica de los volcanes donde se encuentran asentadas, además de propiciar un medio para el análisis y monitoreo del cambio climático, así como de la contaminación que afecta a muchos de estos cuerpos de agua, producto del turismo a que

se han expuesto muchos de ellos (Heegaard et al., 2006; Christenson et al., 2015; Holmes et al., 2016; Ventura, 2018; Farias, 2020).

En Ecuador existen alrededor de 4 lagos volcánicos y son escasas las investigaciones realizadas sobre su diversidad microbiana. Los principales estudios que se han realizado se han enfocado en los aspectos geomorfológicos, geoquímicos y vulcanológicos, la mayoría de los cuales se realizaron ya hace más de 10 años (Steinitz-Kannan et al., 1983; Barberi et al., 1988; Aguilera et al., 2000; Coltorti & Ollier, 2000; Casallas & Gunkel, 2002; Cerón, 2002; Gunkel et al., 2007; Gunkel et al., 2008; Gunkel and Beulker, 2009; Orellana, 2009; Bustos & Serrano, 2014).

Se conoce muy poco acerca de las características de los microorganismos que habitan en estos ecosistemas acuáticos ecuatorianos. La falta de investigación ha generado que muchos de los procesos metabólicos de los microorganismos presentes no se conozcan, así como su posible utilidad en el campo de la biotecnología, ecología, farmacia y salud. Recientemente se han iniciado estudios fisicoquímicos y microbiológicos de manera de poder conocer la microbiota del agua de los principales lagos volcánicos cratéricos que existen en Ecuador, principalmente los lagos Cuicocha y Quilotoa, a fin de conocer, por un lado, la biodiversidad microbiana, y por el otro, determinar las características biológicas, biotecnológicas, ecológicas, farmacológicas y sanitarias de esta población (González et al., 2020; González et al., 2021)

El lago volcánico Quilotoa está ubicado a 3914 msnm, forma parte de la cordillera occidental. Está ubicado en la Provincia de Cotopaxi, a 32 km noroeste de la ciudad de Latacunga y a 83 km al suroeste de Quito, en una zona montañosa entre las parroquias de Zumbahua (12.5 Km., al sur del cráter) y Sigchos (17 Km., al norte del cráter). Forma parte de la reserva ecológica “Los Ilinizas” (Orellana, 2009). Guangaje, Chugchilán e Isinliví son otras poblaciones cercanas (ver figura 1).

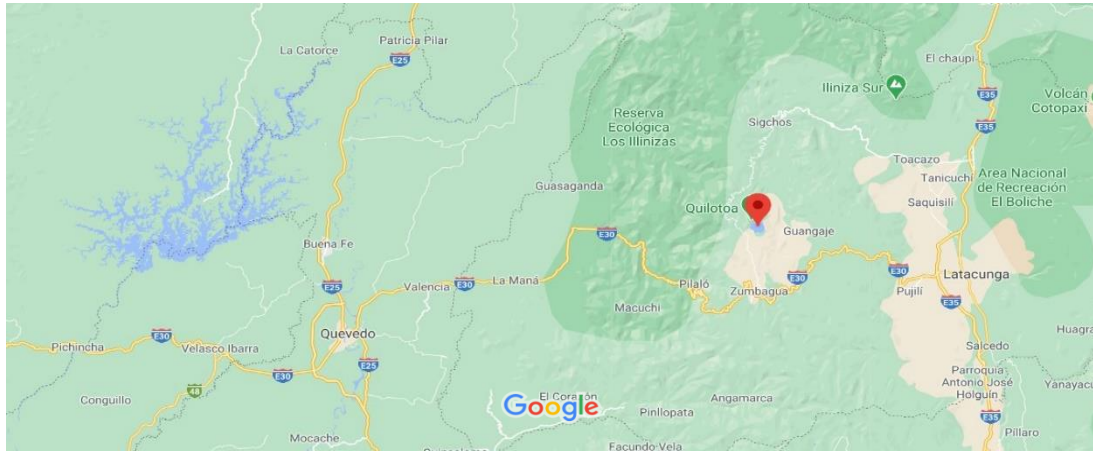


Figura 1. Ubicación geográfica de la laguna volcánica Quilotoa. Fuente: Google Maps, 2020.

El paisaje y los rasgos que se observan actualmente en el volcán son la consecuencia de una serie compleja de sucesivos eventos geológicos, volcánicos y eruptivos. El volcán Quilotoa comprende una caldera sub-circular con una laguna de 3,6 Km² (ver figura 2), que tiene una profundidad de 256 m aproximadamente y un volumen de agua estimado de 0,35 Km³. La caldera se encuentra asentada sobre un viejo edificio volcánico basal de 6 Km de diámetro. Emisiones de CO₂, sobre la superficie del agua, se pueden observar en diferentes zonas lago. (Orellana, 2009). Este lago ha sido objeto de estudios en diferentes campos del conocimiento, entre ellos el químico, pero no se han desarrollado estudios microbiológicos (Aguilera et al., 2000; Cerón, 2002; Gunkel et al., 2007; Gunkel et al., 2008; Hall & Mothes, 2008; Orellana, 2009; Bustos & Serrano, 2014; González et al., 2020).



Figura 2. Vista aérea de la laguna craterica volcánica. Quilotoa. Cotopaxi. Ecuador. Fuente: Orellana, 2009.

Tomando en cuenta lo antes señalado, se realizó el presente estudio con la finalidad de determinar la calidad microbiológica del agua del lago Quilotoa.

METODOS

Materiales

1. Muestras

Para realizar el presente trabajo se realizaron dos campañas de muestreos en el lago volcánico Quilotoa, situado a 3914 msnm en la reserva ecológica de los Ilinizas en la Provincia de Cotopaxi-Ecuador.

Los muestreos se efectuaron durante el año 2019. Se tomaron 32 muestras de agua del lago Quilotoa. Las muestras de agua se recolectaron en 8 sitios seleccionados a lo largo y ancho del lago a nivel de la superficie. Se identificaron las coordenadas geográficas de los sitios de recolección mediante un GPS (Garmin eTrex20).

En cada ocasión de muestreo, se recolectaron dos muestras de agua de un volumen de 1 litro en cada uno de los sitios de muestreos seleccionados. Para la recolección de las muestras se emplearon frascos esterilizados y un muestreador de agua Van Dorn (Wildco Instruments y modelo: 3-1120-G45). Las muestras se trasladaron bajo refrigeración en una cava, hasta el laboratorio, realizándose los análisis microbiológicos dentro de las 24 horas luego de la toma (NTE INEN 2169, 2013, NTE INEN 2176, 2013).

2. Medios de cultivo

Los medios de cultivo que se utilizaron fueron preparados a partir de las formas deshidratadas suministradas por las casas comerciales. Se reconstituyeron con agua destilada y posteriormente se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante 20 minutos a 15 PSI de presión.

Metodología

1. Siembra y recuento de bacterias heterótrofas

La cuantificación de bacterias heterótrofas se realizó por la técnica de filtración por membrana de celulosa de 0.45 µm de tamaño de poro (Rice et al., 2017). Se utilizó el agar R₂A incubando a 30 ° C durante 7 días (Andueza, 2007). El volumen de agua filtrada fue de 100 mL. Los resultados se expresaron como medias aritméticas de las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL).

2. Siembra y recuento de coliformes

El recuento de coliformes se realizó por la técnica de filtración de membrana (ISO, 2000). Se filtraron 100 mL de las muestras a través de filtros de membrana de celulosa Milipore de 0.45 µm de tamaño de poro, que se transfirieron al agar azul eosina de metileno. Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas. Finalizado el tiempo de incubación se contaron las colonias típicas y se expresó el resultado en UFC por 100 mL de agua.

3. Siembra y recuento de *Pseudomonas*.

Para estudiar la presencia de *Pseudomonas* se utilizó la técnica de filtración, filtrando un volumen de 100 mL de muestra de agua y utilizando filtros de membrana de celulosa Milipore de 0.45 µm de tamaño de poro, los cuales se colocaron en agar cetrimida y se incubaron a 37 °C durante 48 horas (Andueza, 2020). Finalizado el tiempo de incubación se contaron las colonias y se expresó el resultado en UFC/mL.

4. Siembra y recuento de *Staphylococcus*

Para la investigación de *Staphylococcus* se filtraron 100 mL de agua de la laguna, a través de filtros de membrana de celulosa Milipore de 0.45 µm de tamaño de poro (UNEP/WHO, 1995). El filtro se colocó sobre la superficie de una caja de Petri con agar manitol salado, el cual se incubó a 37 °C durante 48 horas. Finalizado el tiempo de incubación se contaron las colonias y se expresó el resultado en UFC/100 mL.

5. Siembra y recuento de hongos

Para el estudio de los hongos se empleó la técnica de filtración en membrana. Se filtraron 100 mL de la muestra de agua, empleando filtros de membrana de celulosa Milipore de 0.45 µm de tamaño de poro, que se depositaron en placas con agar Sabouraud con cloranfenicol, las cuales se incubaron a 24 °C por 15 días (Andueza, 2007). Al finalizar el período de incubación se contaron las colonias de hongos y se expresó el resultado en UFC por 100 mL de muestra.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se resumen los valores promedios obtenidos durante los dos muestreos efectuados en el año 2019, respecto a los parámetros microbiológicos evaluados

Al analizar los datos de la Tabla 1, se puede señalar la presencia en las muestras de aguas de diferentes tipos de microorganismos, pero en un bajo número de UFC/mL.

En referencia a las bacterias heterótrofas, parámetro microbiológico evaluado, los valores obtenidos estuvieron en el rango de $1,60 \times 10^2$ a $2,0 \times 10^2$ UFC/mL, con un valor promedio de $2,00 \times 10^2$ UFC/mL (Ver Tabla 1).

Durante el desarrollo del trabajo en ningunas de las muestras estudiadas se pudo detectar la presencia de colonias pertenecientes al grupo de bacterias coliformes (Ver Tabla 1).

Las bacterias del género *Pseudomonas* fue otro de los grupos microbianos que se estudiaron en el presente trabajo. Los valores del conteo obtenido variaron entre $3,00 \times 10$ a $8,50 \times 10$ UFC/mL, con un valor promedio para el agua del lago de $7,0 \times 10$ UFC/mL (Ver Tabla 1).

Dentro del presente trabajo, además de las bacterias del género *Pseudomonas*, también se investigó la presencia de bacterias del género *Staphylococcus*, obteniéndose valores en el recuento de este género bacteriano entre 0 y $7,8 \times 10$ UFC/mL, con un valor promedio para el agua del lago de $3,8 \times 10$ UFC/mL (Ver Tabla 1).

Por último, se cuantificó el número de células fúngicas presentes en el agua del lago Quilotoa, obteniéndose valores entre 0 y $4,0 \times 10$ UFC/mL, con un valor promedio de $1,4 \times 10$ UFC/mL (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Recuento promedio de grupos microbianos del agua del lago Quilotoa. Cotopaxi. Ecuador.

Punto	Longitud	Latitud	Bacterias heterótrofas (UFC/mL)	Coliformes (UFC/mL)	<i>Pseudomonas</i> (UFC/mL)	<i>Staphylococcus</i> (UFC/mL)	Hongos (UFC/mL)
1	732364	9904817	$2,0 \times 10^2$	0	$3,0 \times 10$	$2,3 \times 10$	$0,7 \times 10$
2	732247	9904930	$1,7 \times 10^2$	0	$7,8 \times 10$	$2,8 \times 10$	$0,6 \times 10$
3	732414	9905322	$2,0 \times 10^2$	0	$6,6 \times 10$	0	0
4	732522	9904995	$1,9 \times 10^2$	0	$6,9 \times 10$	0	$4,0 \times 10$
5	732622	9904720	$1,9 \times 10^2$	0	$8,5 \times 10$	$5,5 \times 10$	$3,4 \times 10$
6	732633	9904612	$1,9 \times 10^2$	0	$8,1 \times 10$	$5,6 \times 10$	$0,8 \times 10$
7	732460	9904670	$2,0 \times 10^2$	0	$7,2 \times 10$	$6,4 \times 10$	$0,9 \times 10$
8	732295	9904728	$1,9 \times 10^2$	0	$8,0 \times 10$	$7,8 \times 10$	0
Media			$2,0 \times 10^2$	0	$7,0 \times 10$	$3,8 \times 10$	$1,4 \times 10$
Desviación estándar			10,12	-	17,45	29,52	15,28

Varianza			89,69	-	266,36	762,75	204,25
----------	--	--	-------	---	--------	--------	--------

Nota: UFC/mL: Unidades Formadoras de colonias por mililitro

DISCUSIÓN

La calidad microbiológica del agua está controlada por procesos naturales; sin embargo, las actividades antropogénicas alteran su calidad y pueden limitar su uso para el consumo humano (Atlas & Bartha, 2002).

Uno de los parámetros necesario para entender la dinámica de los ecosistemas acuáticos es conocer el número de microorganismos que lo habitan, entre ellos las bacterias heterótrofas, que son aquellas que no pueden realizar fotosíntesis y debe obtener la energía y nutrientes de material orgánico (Atlas & Bartha, 2002).

La enumeración de las bacterias heterótrofas provee una estimación del número total de bacterias viables y da información acerca de la calidad sanitaria del agua (Rodier, 1998; Allen et al., 2004). Los valores de bacterias heterótrofas superiores de 2.0×10^2 UFC/mL, indican que en el agua existe una concentración significativa de bacterias que pudiera suponer un riesgo para la salud de las personas que entren en contacto con ella (Bartram et al., 2003). La academia nacional de ciencias de los Estados Unidos de Norteamérica recomienda que el límite de bacterias heterótrofas viables en un agua para uso humano debe ser de un máximo de 3.0×10^2 UFC/mL (NAS, 1977).

Los resultados obtenidos en esta investigación, respecto al número de bacterias heterótrofas, son bajos y aunque no existe normativa en Ecuador que indique los valores máximos permitidos para este tipo de microorganismos en aguas de uso recreativos, si se toma como referencia y se compara con lo indicado por la academia nacional de ciencia de los Estados Unidos de Norteamérica (NAS, 1977), quienes señalan que valores de microorganismos heterótrofos superiores a 300 UFC/mL, pueden representar un riesgo sanitario. En este sentido, se podría indicar que las aguas del lago Quilotoa tienen una buena calidad microbiológica por lo que no representaría un riesgo sanitario.

Las aguas de las lagunas volcánicas cratéricas constituyen ecosistemas oligotróficos donde los niveles de materia orgánica son bajos y con una limitada biodisponibilidad. La población

microbiana de estos ecosistemas son en su mayoría bacterias heterótrofas, que, debido a los problemas en la carencia de nutrientes, entran en un estado de sobrevivencia denominado “viables no cultivables” (Morita, 1982; Byrd et al., 1991; Mukamolova et al., 2003; Su et al., 2013) y por ello se consiguen valores muy bajos cuando se intenta aislarlas en medios de cultivos apropiados. Un gran número de las bacterias que se encuentran en estas aguas presentan un crecimiento lento y requerimientos nutricionales muy específicos y por ello sólo se detectan de un 5-10 % de las bacterias cuando se realizan cultivos (Rappe & Giovannoni, 2003; Farias, 2020).

Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con relación a las bacterias heterótrofas, con los señalados por otros autores en diferentes tipos de lagos de alta montaña, entre ellos lagos volcánicos, en otras partes del mundo, se observan que son similares, ya que se señalan que este tipo de ecosistema son de naturaleza oligotrófica y el número y variedad de microorganismos es bajo (Ordoñez, 2009; Barranco et al., 2011; Bravo et al., 2014; Albarracín et al., 2015; Mapelli et al., 2015; Albarracín et al., 2016; Albarracín et al., 2020; Farias, 2020).

Dentro de las bacterias heterótrofas se encuentra un subgrupo bacteriano denominado coliforme que se ha utilizado desde hace muchos años como indicador de la calidad sanitaria del agua. Su presencia señala contaminación generalmente de origen antropogénico (Atlas & Bartha, 2002). En ninguna de las muestras analizadas se pudo encontrar bacterias del grupo coliformes, lo cual estaría dado por la escasa cantidad de materia orgánica presente en lago Quilotoa que ha sido clasificado como una ecosistema de naturaleza oligotrófica (González et al., 2020) y además sustentaría la idea de que la contaminación microbiana por causa de animales y del hombre es escasa, y que la calidad sanitaria de este ecosistema acuático sería buena

En el trabajo también se cuantificó el número de bacterias del género *Pseudomonas*. Las bacterias del género *Pseudomonas* intervienen en diversos procesos ecológicos y son esenciales en los hábitats acuáticos ya que degradan la materia orgánica, siendo, además, una bacteria muy ubicua. Así mismo, esta bacteria puede colonizar diversos ecosistemas acuáticos debido a su capacidad de sobrevivir en ambientes oligotróficos (Atlas & Bartha, 2002).

Miembros del género *Pseudomonas* se han aislados en diversos lagos cratéricos volcánicos del mundo, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo (Gaidos et al., 2004; Demergasso et al., 2010; Rincón-Molina et al., 2019; Tapia-Vázquez et al., 2020; González et al., 2021), así como en el agua de lagos de alta montaña (Barranco et al., 2011; Bravo et al., 2014).

Otro grupo bacteriano investigado en el estudio fue el género *Staphylococcus*. Los miembros del género *Staphylococcus* pueden vivir en ecosistemas con concentraciones más o menos elevadas de cloruro sódico, lo que hace posible que se encuentren en aguas con altos valores de concentración de sales, como es el caso del agua del lago Quilotoa (González et al., 2020). La presencia de estos microorganismos ya ha sido indicada por otros autores en muestras de aguas de lagos de alta montaña y lagos volcánicos con valores similares a los encontrados en el presente trabajo (Queck & Otto, 2008; Demergasso et al., 2010; Barranco et al., 2011; Bravo et al., 2014).

Otro de los parámetros microbiológicos evaluados fue la cuantificación de hongos. Existen muy pocos trabajos en donde se indique la presencia de hongos en ecosistemas de aguas naturales, como el agua de los lagos volcánicos. Estos microorganismos pueden vivir de la descomposición de residuos vegetales y su presencia, en número alto, indica contaminación del agua. Sin embargo, se ha señalado que para poder desarrollarse necesitan grandes cantidades de materia orgánica, situación que no se presenta en el lago Quilotoa, razón del bajo número observado (Niemi et al., 1982; Connell et al., 2009; Wurzbacher, et al., 2010; Connell. & Staudigel, 2013).

El agua del lago Quilotoa no es estéril, alberga una microbiota característica en función de sus condiciones fisicoquímicas extremas. Los valores obtenidos en la cuantificación de la carga microbiana señalan la presencia de una microbiota escasa, lo cual indica que la calidad sanitaria de estas aguas es buena.

AGRADECIMIENTO

El agradecimiento a la Dirección de Investigaciones de la Universidad Central del Ecuador por facilitar los fondos económicos para el desarrollo del presente trabajo a través del proyecto senior 045.

El agradecimiento a la Dirección de Investigaciones de la Universidad Central del Ecuador por facilitar los fondos económicos para el desarrollo del presente trabajo a través del proyecto senior 045.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

Aguilera, E., Chiodini, G., Cioni, R., Guidi, M. Marini, L. & Raco, B. (2000). Water chemistry of Lake Quilotoa (Ecuador) and assessment of natural hazards. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 97: 271–285.

Albarracín, V.H., Galván, F.S. & Farias, M.E. (2020) Extreme Microbiology at Laguna Socompa: A High-Altitude Andean Lake (3570 m a.s.l.) in Salta, Argentina. In: Farías M. (eds) *Microbial Ecosystems in Central Andes Extreme Environments*. Springer, Cham.

Albarracín, V.H., Gärtner, W. & Farias, M.E. (2016) Forged under the sun: life and art of extremophiles from Andean lakes. *Photochem Photobiol*, 92:14–28.

Albarracín, V.H., Kurth, D., Ordoñez, O.F., Belfiore, C., Luccini, E., Salum, G.M., Piacentini, R.D. & Farías, M.E. (2015) High-up: a remote reservoir of microbial extremophiles in central Andean wetlands. *Front Microbiol*, 6:1404.

Allen, M., Edberg, S. & Reasoner, D. (2004). Heterotrophic plate count bacteria what is their significance in drinking water. *Int. J. Food Microbiol*, 92: 265-274.

Andueza, Félix. (2007). *Diversidad Microbiana de las aguas mineromedicinales de los balnearios de Jaraba*. [Tesis Doctoral]. Universidad Complutense de Madrid, España.

Andueza, F., Chauca, S., Vinueza, R., Escobar, S., Medina-Ramírez, G. & Araque, J. (2020). Calidad microbiológica de las aguas termales del Balneario “El Tingo”. Pichincha. Ecuador. *Revista Ars Pharmaceutica*, 61 (1): 1-9. <http://dx.doi.org/10.30827/ars.v61i1.8378>

Arce, Z., Arias, A. & Mera, A. (2017). Organismos extremófilos en el ojo de la ciencia. *Revista Médica Herediana*, 28(1): 70.

Aszalós, J., Szabó, A., Felföldi, T., Jurecska, L., Nagy, B. & Borsodi, A. (2020). Effects of Active Volcanism on Bacterial Communities in the Highest-Altitude Crater Lake of Ojos del Salado (Dry Andes, Altiplano-Atacama Region). *Astrobiology*, 20 (6):741-753.

- Atlas, R. & Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y Microbiología ambiental*. 4ta Ed. Pearson educación. S A., Madrid. España.
- Barberi, F., Coltelli, M., Ferrara, G., Innocenti, F., Navarro, JM. & Santacroce, R. (1988) Plio-Quaternary volcanism in Ecuador. *Geol. Mag*, 125:1–14.
- Barranco, C., Araque, J. & Andueza, F. (2011). Bacterias heterótrofas del agua de lagunas de alta montaña de los Andes Venezolanos. *Revista portuguesa de Farmacia, Suplemento especial, LII (5): 40.*
- Bartram, J., Cotruvo, J., Dufour, A., Hazan, S. & Tanner, B. (2003). Heterotrophic plate count. *Int. J. Food Microbiol*, 92: 239-240.
- Bravo, D., Trimachi, M., Loewenthal, J., Araque, J. & Andueza F., (2014). Microbiota bacteriana viable cultivable del agua de lagunas de alta montaña en los Andes Venezolanos. *Revista Hechos en Microbiología*, 5 (2): 80.
- Bustos, E. & Serrano, N. (2014). Análisis de la distribución espacial de la emisión difusa de CO₂ en las calderas volcánicas Cuicocha y Quilotoa como sustento técnico para la toma de decisiones en la gestión de riesgos. (Tesis) Ingeniería Geográfica y del medio Ambiente. Universidad de las Fuerzas Armadas.
- Casallas, J. & Gunkel, G. (2002). Algunos aspectos limnológicos de un lago altoandino, el Lago San Pablo, Ecuador, *Limnetica*, 20, 29–46, 2002.
- Cerón, C. (2002). Estudio limnológicos de la laguna del Quilotoa. Proyecto HYBAM. Quito. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología, Instituto de Investigación para el Desarrollo en Cooperación, Escuela Politécnica Nacional- Instituto Geofísico. Quito. Ecuador.
- Christenson, B., Németh, K., Rouwet, D., Tassi, K., Vandemeulebrouck, J. & Varekamp, J. (2015). *Volcanic Lakes. Advances in Volcanology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Berlin. Alemania.
- Cole, J. (1968). Crater lakes. In: *Geomorphology. Encyclopedia of Earth Science*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Coltorti M. & Ollier CD. (2000) Geomorphic and tectonic evolution of the Ecuadorian Andes. *Geomorphology*, 32:1–19.
- Connell, L. & Staudigel, H. (2013). Fungal Diversity in a Dark Oligotrophic Volcanic Ecosystem (DOVE) on Mount Erebus, Antarctica. *Biology*, 2: 798-809.
- Connell, L., Barrett, A., Templenton, A. & Staudigel, H. (2009). Fungal Diversity Associated with an Active Deep Sea Volcano. *Geomicrobiology Journal.*, 26:597–605.

Demergasso, C., Dorador, C., Meneses, D., Blamey, J., Cabrol, N., Escudero, L. & Chong, G. (2010) Prokaryotic diversity pattern in high-altitude ecosystems of the Chilean Altiplano. *J. Geophys. Res.*, 115: 2-14. DOI:10.1029/2008JG000836.

Farias, M. (2020). *Microbial ecosystem in central Andes, extreme environments*. Springer. Switzerland.

Gaidos, E., Lanolil, B., Thorsteinsson, T., Graham, A., Skidmore, M., Han, S., Rust, T. & Popp, B. (2004). A Viable Microbial Community in a Subglacial Volcanic Crater Lake, Iceland. *Astrobiology*, 4(3): 1-7.

González, M., Acuña, J., Escobar, J., Viteri, F., Villacis, L., Parra, Y., Araujo, L., Araque, J. & Andueza, F. (2020). Calidad fisicoquímica del agua de la laguna volcánica craterica Quilotoa. Cotopaxi. Ecuador. *Rev. Perspectiva*, 21(1): 71-83

González, M., Araque, J., Viteri, F., Villacis, L., Escobar, S., Araujo, L., Medina, G. & Andueza, F. (2021). Microbiología del agua del lago craterico volcánico Cuicocha. Imbabura. Ecuador. Cotopaxi. Ecuador. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 63 (1):1-17

Gunkell, G., Viteri, F., Beulker, C. & Grupe, B. (2007). Accumulation of Carbon Dioxide in Deep Caldera Lakes of Ecuador: Evaluation and Monitoring of Possible Gas Eruptions. FIGEMPA. Universidad Central del Ecuador.

Gunkel, G., Beulker, C., Grupe, B. & Viteri, F. (2008). Hazards of volcanic lakes: analysis of Lakes Quilotoa and Cuicocha, Ecuador. *Advances in Geosciences*, European Geosciences Union, 14: 29-33.

Gunkel, G. & Beulker C. (2009) Limnology of the crater Lake Cuicocha, Ecuador, a cold water tropical lake. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 94: 103-125.

Hall, M. & Mothes, P. (2008). Quilotoa volcano. Ecuador: An overview of young dacitic volcanism in a lake-filled caldera. *J. of Volcano Geothermal Research*, 176(1): 44-55

Heegaard, E., Lotter, A. F. & Birks, H. (2006). Aquatic biota and the detection of climate change: Are there consistent aquatic ecotones. *Journal of Paleolimnology*, 35: 507-518.

Holmes, J., Metcalfe, S., Jones, H. & Marshall, J. (2016). Climatic variability over the last 30000 years recorded in La Piscina de Yuriria, a Central Mexican crater lake. *Journal of Quaternary science*, 31: 310-324.

INEN, (2013). NTE INEN 2169:2013. Muestreo. Manejo y Conservación de Muestras. Instituto Ecuatoriano de Normalización 2169. Primera Edición. Quito-Ecuador.

INEN, (2013). NTE INEN 2176 (2013). Agua. Calidad del Agua. Muestreo de técnicas de Muestreo. Instituto Ecuatoriano de Normalización 2176. Primera Edición. Quito-Ecuador.

International Organization for Standardization (ISO). (2000). Water quality – detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Part 1: Membrane filtration method. 9308-1:2000, International. Geneva.

Mapelli, F., Marasco, R., Rolli, E., Daffonchio, D., Donachie, S. & Borin, S. (2015) Microbial Life in Volcanic Lakes. In: Rouwet D., Christenson B., Tassi F., Vandemeulebrouck J. (eds) Volcanic Lakes. Advances in Volcanology. Springer, Berlin, Heidelberg.

Morita, R. (1982). Starvation-survival of heterotrophic in the marine environment. Adv. Microbiol. Ecol, 6: 117-198.

Mukamolova, G., Kaprelyants, A., Kell, D. & Young, M. (2003). Adoption of the transiently non-culturable state a bacterial survival strategy. Adv. Microb. Physiol, 47: 65-129.

National Academy of Science (1977). Drinking water and Health. Vol 1. National Academy of Science (NAS). National Academy Press. Washington. USA.

Niemi, R., Knuth, S. & Lundstrom, K. (1982). Actinomycetes and fungi in surface waters and in potable water. Appl. Environ. Microbiol, 43: 378-388.

Ordoñez, OF., Flores, MR., Dib, JR., Paz, A. & Farías, ME. (2009) Extremophile culture collection from Andean lakes: extreme pristine environments that host a wide diversity of microorganisms with tolerance to UV radiation. Microb Ecol, 58(3):461–473.

Orellana, J. (2009). Volcán Quilotoa. Breve Resumen de su Historia, Geología y Actividad Eruptiva. Peligros Potenciales Asociados. Instituto Geofísico Escuela Politécnica Nacional. [En línea]. Disponible en: <https://www.igepon.edu.ec/publicaciones-para-la-comunidad/comunidad-espanol/33-triptico-quilotoa-historia-peligros-y-sistema-de-monitoreo> [Acceso el día 23 de julio del 2020].

Padisák, J., & Naselli-Flores, L. (2021). Phytoplankton in extreme environments: importance and consequences of habitat permanency. Hydrobiologia, 848: 157–176 <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04353-4>.

Queck, SY. & Otto, M (2008) *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase-negative *Staphylococci*. In: Lindsay J (ed) *Staphylococcus: Molecular Genetics*. Caister Academic Press, Norfolk, pp 227–254.

Rappe, M. & Giovannoni, S. (2003). The uncultured microbial majority. Annu. Rev. Microbiol, 57: 369-394.

Rasuk, MC., Ferrer, GM., Kurth, D., Portero, LR., Farías, ME. & Albarracín, VH. (2017) UV-resistant Actinobacteria from high-altitude Andean lakes: isolation, characterization, and antagonistic activities. Photochem Photobiol, 93(3):865–880.

Rice, EW., Baird, RB. & Eaton, AD. (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater. 23 Edition. American Public Health Association. American Water Works Association. Water Environment Federation. Washington. USA.

Rincón-Molina, C., Hernández-García, J., Rincón-Rosales, R., Gutiérrez-Miceli, F., Ramírez-Villanueva, D., González-Terreros, E., Peña-Ocaña, B., Palomeque-Domínguez, H., Dendooven, L. & Ruíz-Valdiviezo, V. (2019) Structure and Diversity of the Bacterial Communities in the Acid and Thermophilic Crater-Lake of the Volcano “El Chichón”, México, Geomicrobiology Journal, 36(2): 97-109. DOI: 10.1080/01490451.2018.1509158.

Rodier, J. (1998). Análisis de las aguas: Aguas naturales, Aguas Residuales, Aguas de Mar. Omega. Barcelona. España.

Steinitz-Kannan, M. & Colinvax Kannan, P. (1983). Limnological Studies in Ecuador. A Survey of chemical and physical properties of Ecuadorian lakes. Archiv. Hydrobiol, 65: 61-105.

Su, X., Chen, X., Hu, J., Shen, C. & Ding, L. (2013). Exploring the potential environmental functions of viable but non-culturable bacteria. World J Microbiol Biotechnol, 29, 2213–2218. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1390-5>

Tapia-Vázquez, I., Sánchez-Cruz, R., Arroyo-Domínguez, M., Lira-Ruan, V., Sánchez-Reyes, A., Sanchez-Carbente, M., Padilla-Chacón, D., Batista-García, R. & Folch-Mallol, J. (2020). Isolation and characterization of psychrophilic and psychrotolerant plant-growth promoting microorganisms from a high-altitude volcano crater in Mexico. Microbiol Res, 232:1-12.

Toro, D., Salazar, M., Ocampo, D., Correa, R. & Salgado, P. (2012). Estudio Limnológicos de la Laguna Negra, Zona Amortiguadora del P.N.N. en Los Nevados. Boletín Científico. Museo de Historia Natural, 2 (16): 23-28.

United Nations Environment Programme-World Health Organization (UNEP-WHO). (1995). Determination of *Staphylococcus aureus* in sea water and sewage by the membrane filtration (MF) culture method. Studie 28. Rev. I. UNEP-WHO. Athens. Greece.

Ventura, M. (2018). Los lagos de alta montaña como sensores del cambio climático. Impactos en los ecosistemas acuáticos, en Centro de Estudios Avanzados de Blanes, CSIC. [En línea]. España, disponible en: <http://www.divulgameteo.es/fotos/lecturas/Lagos-alta-montaña-CC.pdf> [Acceso el día 11 de julio de 2020]

Wurzbacher, C., Bärlocher, F. & Grossart, H. (2010). Fungi in lake ecosystems. Aquat Microb Ecol, 59: 125-149.