



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Ecología, Genética y Evolución

**Influencia de factores ambientales en la dinámica espacio-temporal de la
comunidad fitoplanctónica en dos lagos andinos Norpatagónicos profundos
como caso de estudio**

Tesis presentada para optar por el título de Doctora de la Universidad de
Buenos Aires en el área de Ciencias Biológicas

Lic. Lucía Gabriela De Stefano

Directora de Tesis: Dra. Claudia Patricia Queimaliños

Co-Director de Tesis: Dr. Gonzalo Luis Pérez

Consejera de Estudios: Dra. Haydée Norma Pizarro

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y
Medioambiente (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas -
Universidad Nacional del Comahue)

Buenos Aires, 26 de julio de 2023

Entre el vivir y el soñar

hay una tercera cosa.

Adivínala.

A. Machado

Índice

Resumen.....	viii
Abstract	x
Agradecimientos	xii
Glosario de Términos Relevantes	xvi
CAPÍTULO I	1
Introducción General	1
I.1 Introducción general	2
I.1.2 Fitoplancton y sus implicancias ecológicas.....	6
I.3 Análisis de la comunidad fitoplanctónica.....	8
I.4 Importancia particular de las variables físicas y químicas	10
I.5 Caso de estudio.....	14
Objetivo General del trabajo y estructura de la Tesis	15
Objetivo General	15
Estructura de la Tesis	15
I.2 Área de estudio	17
I.2.1 Ubicación y entorno geográfico de los lagos.....	17
I.2.2 Características de las cuencas hidrológicas de los lagos Moreno	18
I.2.3 Características hidrogeomórficas de los lagos.....	20
I.2.4 Características climáticas de la región de estudio	22
I.2.5 Antecedentes limnológicos de los lagos Moreno	23
<i>Régimen térmico</i>	<i>23</i>
<i>Clima óptico.....</i>	<i>24</i>
<i>Grado de trofía y niveles de nutrientes</i>	<i>24</i>
<i>Aportes de las cuencas</i>	<i>25</i>
<i>Caracterización de la materia orgánica disuelta</i>	<i>25</i>
<i>Caracterización de las comunidades y de las tramas tróficas pelágicas</i>	<i>26</i>
CAPÍTULO II	28
Variables Ambientales	28
II.1.1 Objetivos	36
II.1.2 Hipótesis y predicciones.....	36
II.2 Materiales y métodos	37
II.2.1 Condiciones meteorológicas durante el período de estudio: temperatura del aire y precipitaciones	37
II.2.2 Características HGM.....	38
II.2.3 Frecuencia de muestreo, mediciones <i>in situ</i> y obtención de las muestras de agua	39
II.2.4 Determinaciones de laboratorio	41

II.2.4.1 Determinación de Sólidos Totales en Suspensión (STS).....	41
II.2.4.2 Determinación de Clorofila <i>a</i> (Cla).....	42
II.2.4.3 Determinación del carbono disuelto.....	42
Concentraciones de CID y de COD	42
Caracterización de la MOD	42
II.2.4.4 Análisis de nutrientes (P, N, Si)	45
II.2.5. Procesamiento de los datos y cálculos	46
II.2.5.1 Índice de estabilidad de Schmidt (SSI)	46
II.2.5.2 Estudio del clima óptico de los lagos	47
Determinación de las propiedades ópticas aparentes	48
Coeficientes de atenuación (K_{dPAR}).....	48
Cálculos de irradiancia por profundidad (I_z).....	49
Determinación de la zona eufótica y de la zona de mixis.....	49
II.2.5.3 Coeficientes de absorción de partículas no pigmentadas (ad_{435}) como estimador de turbidez	50
II.2.6 Estimación de la limitación por nutrientes	51
II.2.7 Análisis estadísticos	51
II.3 Resultados	52
II.3.1 Condiciones meteorológicas durante el período de estudio: precipitaciones, temperatura del aire y radiación solar	52
II.3.2 Características hidrogeomórficas de los lagos y fluctuaciones del nivel del agua.....	54
II.3.3 Variables físicas, químicas y Clorofila <i>a</i>	54
II.3.3.1 Temperatura del agua.....	54
II.3.3.2 Estabilidad térmica de la columna de agua	56
II.3.3.3 Conductividad y pH	58
II.3.3.4 Oxígeno disuelto	58
II.3.3.5 Clima óptico de los lagos	59
II.3.3.6 ad_{435} como indicador de los sólidos totales en suspensión.....	60
II.3.3.7 Clorofila <i>a</i>	61
II.3.3.8 Concentración de carbono disuelto orgánico e inorgánico	62
II.3.3.9 MODC.....	64
II.3.3.10 MODF	67
Contribución relativa de los componentes	68
II.3.3.11 Análisis de los nutrientes.....	73
Fósforo (P).....	73
Nitrógeno (N)	75
Sílice disuelto	84

II.3.4 Limitación por nutrientes	84
NID:PT	84
Si:PT.....	85
II.3.5 Integración de variables	86
Sincronía.....	86
Análisis de componentes principales.....	86
Discusión.....	93
II.5 Anexo M&M Volver a M&M	104
Espectros de emisión.....	104
Índice biológico o de MOD recientemente originada (BIX)	104
Índice de Humificación (HIX).....	104
Matrices de Excitación-Emisión	104
Obtención de las EEMs.....	106
Análisis de Factores Paralelos (PARAFAC).....	106
II.5.1 Bibliografía Anexo	107
CAPÍTULO III.....	109
El Fitoplancton.....	109
III.1 Introducción	110
III.1.1 Objetivos	115
III.1.2 Hipótesis	116
III.2 Materiales y métodos	117
III.2.1 Obtención de las muestras	117
III.2.2 Análisis de la Comunidad Fitoplanctónica y de ciliados mixotróficos.....	117
Recuento del picoplancton autotrófico	117
Nano y microfitoplancton	118
Cálculos de biovolumen y de biomasa.....	119
Identificación taxonómica del fitoplancton	120
III.2.3 Análisis por Grupos Funcionales	120
Análisis de grupos funcionales.....	120
Parámetros Comunitarios	120
Índice de diversidad	120
Índice de equitatividad	121
Índice de dominancia.....	121
III.2.4 Análisis estadísticos	121
III.3.1 Composición de la Comunidad Fotótrofa	122
Análisis Taxonómico.....	122

Picofitoplancton	124
Nano y microfitoplancton	124
Biomasa total	128
Contribución de las fracciones de tamaño y de los grupos taxonómicos	129
III.3 Parámetros Comunitarios.....	131
Riqueza específica.....	131
Diversidad de Shannon	132
Dominancia	132
Equitatividad	133
Grupos Funcionales	135
Sucesión y distribución vertical de los Grupos Funcionales	136
Integración de biomasa total según GF.....	143
Grupos funcionales y variables ambientales.....	146
Análisis de Factores Múltiples.....	146
III.4 Discusión.....	150
CAPÍTULO IV.....	161
Los pigmentos fitoplanctónicos y espectros de absorción como variables claves para la estimación de la composición taxonómica de la comunidad	161
IV.1 Introducción.....	162
IV.2 Materiales y métodos.....	166
IV.2.1 Determinación de los espectros de absorción de la comunidad fotótrofa	166
IV.2.2 Análisis de los pigmentos de la comunidad fotótrofa y procesamiento de los datos	166
IV.2.3 Modelos predictivos.....	166
IV.2.4 Regresiones Lineales Múltiples	168
IV.2.5 Modelos de aprendizaje automático	169
IV.3 Resultados.....	172
IV.3.1 Pigmentos fitoplanctónicos por HPLC	172
.....	173
IV.3.2 Coeficientes de absorción algales <i>in vivo</i> a longitudes de onda de referencia	179
IV.3.3 Espectros de absorción fitoplanctónicos.....	181
IV.3.4 Estimación de la biomasa fitoplanctónica	184
IV.3.5 Complejización de los modelos predictivos de biomasa fitoplanctónica y composición taxonómica.....	185
<i>Modelos de RLM y aprendizaje automático.....</i>	185
IV.3.6 Contribución de las distintas variables al modelo predictivo	191
IV.4 Discusión	194
IV.5. Anexo.....	199

CAPÍTULO V	202
Conclusiones Generales	202
V. Resultados principales.....	203
V.1 Parámetros físicos y químicos.....	203
V.II Fitoplancton.....	205
V.III. Pigmentos.....	206
V.2 Conclusiones generales.....	207
Bibliografía General.....	210

Resumen

Esta Tesis Doctoral se centró en el estudio de la dinámica espacio-temporal de la biota fotótrofa en dos cuerpos de agua profundos de la región andina de Patagonia Norte, el lago Moreno Este (ME) y el lago Moreno Oeste (MO). Estos lagos se encuentran conectados y poseen características hidrogeomórficas diferentes. La biota fotótrofa se evaluó desde distintos enfoques, incluyendo el taxonómico, el de grupos funcionales (GF), el pigmentario y el bio-óptico. Paralelamente, se evaluaron diversas variables ambientales [p.e., dinámica de la temperatura, de los nutrientes, de la materia orgánica disuelta (MOD) y del clima óptico], con el propósito de analizar la influencia de factores locales y regionales sobre la estructura y dinámica de la comunidad. Los muestreos fueron estacionales y en simultáneo permitiendo evaluar la estacionalidad y la sincronía entre lagos. Los mismos se iniciaron en primavera y durante casi un año y medio, abarcando tres períodos del ciclo monomíctico. Además, se tuvo en cuenta toda la columna de agua, siendo esto novedoso para los estudios de los lagos andino-patagónicos. Se observó que la mayoría de los parámetros físicos y químicos estudiados variaron de manera sincrónica entre lagos, resaltando la fuerte influencia que ejercen los factores externos, como por ejemplo las variables climáticas. Entre los resultados más relevantes de esta Tesis se destaca la descripción, por primera vez para lagos de esta región, del desarrollo de una nitracлина en los dos ambientes. Los mayores valores de NO_3 hipolimnéticos durante la estratificación disminuyeron durante la mezcla invernal, y las concentraciones se igualaron en toda la columna de agua. Esta homogeneización del NO_3 fue coincidente con los mayores valores de biomasa fotótrofa descritos. En cuanto a los ensambles de la biota fotótrofa, se observaron diferencias y similitudes entre lagos, como así también en la sucesión de la comunidad. Se observó una sincronía entre GF presentes durante la estratificación (eSNCM, Lo y Z), Contrariamente, durante la mezcla de invierno y la estratificación incipiente (primavera temprana) los GF N y A fueron asincrónicos, resaltando la existencia de procesos internos diferentes en cada lago que predominan durante estos

períodos. En este sentido, las diferencias registradas pueden ser atribuidas a la variabilidad en el ingreso de materia orgánica disuelta desde la cuenca y su relación con los nutrientes, con la disponibilidad de luz y con la estructuración térmica. Si bien la mayor estratificación vertical también favoreció el desarrollo de organismos móviles como ciliados mixotróficos, nanoflagelados y dinoflagelados, el mayor desarrollo lo presentó la diatomea *Tabellaria fenestrata*, la cual se beneficia de los procesos de mezcla vertical y resuspensión, encontrando un hábitat ideal para su crecimiento desde los 30-40m de profundidad hasta casi el fondo de los lagos, más allá del límite convencional de la zona eufótica (Z1%). El análisis pigmentario mostró resultados no concluyentes, mientras que los espectros de absorción presentaron una variación similar entre lagos, identificándose por derivadas cuartas 6 máximos entre los 400-700nm. Se analizaron distintos modelos predictivos para estimar la biomasa total y de los principales grupos taxonómicos a partir de los coeficientes de absorción de los 6 máximos identificados y variables auxiliares (fecha, lago, estrato, profundidad). Los modelos evaluados, de creciente complejización, fueron: regresiones lineales múltiples y modelos de aprendizaje automático, probándose 3 tipos de árboles de decisión (*random forest*, *boosted Tree* y *XG Boost*). Los modelos de aprendizaje automático resultaron muy robustos para predecir la biomasa, siendo promisoría su utilización para el monitoreo de estos lagos a escalas espacio-temporales mayores que las posibles mediante el tradicional recuento fitoplanctónico bajo microscopio.

En síntesis, los resultados obtenidos en esta Tesis aportaron información valiosa sobre la biodiversidad y sobre la dinámica física y química de dos lagos andino-patagónicos, permitiendo comprender la complejidad de los factores que interactúan sobre el funcionamiento de estos interesantes sistemas acuáticos.

Palabras clave: fitoplancton, nitraclina, lagos templados profundos, Tabellaria fenestrata, árboles de decisión.

Influence of Environmental Factors on the Spatial-Temporal Dynamics of the Phytoplankton Community in Two Deep Andean North Patagonian Lakes: A Case Study

Abstract

This Doctoral Thesis focused on the spatiotemporal dynamics of phototrophic biota in two deep water bodies in the Andean region of Northern Patagonia, Lake Moreno Este (ME) and Lake Moreno West (MW). These lakes are connected and have different hydrogeomorphic characteristics. The phototrophic biota was evaluated from different approaches, including taxonomic, functional group (FG), pigmentary, and bio-optical. Simultaneously, several environmental variables were assessed (e.g., dynamics of temperature, dynamics, dissolved organic matter (DOM), and optical climate) in order to analyze the influence of local and regional factors on the structure and dynamics of the community. The sampling was conducted seasonally and simultaneously, allowing for comparisons and synchrony between the lakes. The sampling period spanned almost a year and a half, covering three periods of the monomictic cycle. Notably, the entire water column was considered, which was novel for studies of Andean-Patagonian lakes. Most of the studied physicochemical parameters varied synchronously between the lakes, highlighting the strong influence of external factors such as climatic variables. One of the key findings of this Thesis was the description, for the first time in lakes of this region, of a nitracline development in both environments. The higher hypolimnetic NO_3 concentrations during stratification decreased during winter mixing, resulting in equal concentrations throughout the water column. This homogenization of NO_3 coincided with the highest described phototrophic biomass values. Differences and similarities in the phototrophic biota assemblages were observed between the lakes, as well as in community succession, showing synchrony among FGs present during stratification (eSNCM, Lo, and Z). In contrast, during winter mixing and incipient stratification (early spring), FGs N and A were asynchronous, highlighting the existence of different internal processes in each

lake that predominate during these periods. These differences could be attributed to the variability in dissolved organic matter input from the basin and its relationship with nutrients, light availability, and thermal structure. While increased vertical stratification also favored the development of mobile organisms such as mixotrophic ciliates, nanoflagellates, and dinoflagellates, the diatom *Tabellaria fenestrata* showed the highest development. This diatom benefits from vertical mixing and resuspension processes, finding an ideal habitat for its growth from depths of 30-40m to almost the lake bottom, beyond the conventional limit of the euphotic zone (Z1%). The phototrophic community was also studied through pigmentary analysis (with inconclusive results) and absorption spectra. The variation in absorption spectra was similar between the lakes, and by fourth derivatives, six maxima were identified between 400-700nm. Various predictive models were analyzed to estimate total biomass and biomass of the main taxonomic groups based on the absorption coefficients of the six identified maxima and auxiliary variables (date, lake, layer, depth). The evaluated models, increasing in complexity, included multiple linear regressions (MLR) and machine learning models, testing three types of decision trees (random forest (RF), boosted Tree (BT), and XG Boost (XGB)). The machine learning models proved to be highly robust in predicting biomass, and their use for monitoring these lakes at larger spatiotemporal scales than possible by means of traditional phytoplankton counts under a microscope is promising.

In summary, the results obtained in this Thesis provide valuable information about the biodiversity and physicochemical dynamics of two Andean-Patagonian lakes, contributing to the understanding of the complexity of the factors that interact in the functioning of these interesting aquatic systems.

Keywords: Phytoplankton, nitracline, deep temperate lakes, Tabellaria fenestrata, decision trees.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca otorgada para la realización de este trabajo de Tesis.

Al Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Universidad Nacional del Comahue) por permitirme desarrollar esta tesis en sus instalaciones y por brindarme acceso a los recursos y laboratorios necesarios para llevar a cabo mi investigación.

A la universidad pública, gratuita y de calidad y en especial a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad de Buenos Aires, casa de estudios que me formó y permitió realizar este doctorado.

Quiero agradecerles a mis directores de Tesis los Dres. Claudia Queimaliños y Gonzalo Pérez, por confiar en mí, y alentarme a capacitarme en cursos, e ir a congresos. Gracias por todo lo compartido y por todo lo que me enseñaron en estos años, tanto a nivel profesional como humano. Agradezco su buena predisposición, los innumerables llamados, correos electrónicos y mensajes de apoyo. Especialmente porque atravesamos la pandemia y me sentí siempre acompañada. También por brindarme paciencia, contención y trabajar codo a codo cuando fue necesario, sobretodo en este último tiempo.

Quiero agradecer especialmente a Claudia por todas las conversaciones y el tiempo compartido en el laboratorio y fuera de él. Aprendí muchísimo con vos.

También quiero agradecer a Gonzalo por su valioso aporte en el campo de la óptica, los pigmentos, y todo lo que en un principio me resultaba más abstracto. Para mi resultó ser una grata sorpresa, y amplió mi perspectiva en el campo de la biología.

Quiero agradecerle a Haydée Pizarro, que me fue mi consejera de estudios y que me recomendó a mis directores.

Al jurado que tan amablemente leyó y contribuyó a este trabajo final con sus comentarios y sugerencias, también por su calidez humana en darme una devolución rápida entendiendo que los tiempos no siempre son como uno espera, Luz Allende, Inés O'farrel y Adonis Giorgi, muchas gracias.

A todas las personas que contribuyeron a que esta Tesis sea real

A Bladauskas, Pablo Alvear y Ariel Mayoral, por los mates calientes y hacer más amenos los muestreos, en el lago, especialmente en invierno.

A Mariana Langenheim que pasó las muestras por el HPLC.

A Marina Gereza por la colaboración en los recuentos de picoplancton.

A Patricia Garcia por la colaboración con el análisis de la calidad de la materia de orgánica.

A Gilda Garibotti por la buena predisposición y asesoramiento desinteresado en las dudas de los análisis estadísticos.

A los integrantes del INIDEP por el curso del uso de HPLC, y la dedicación especial para llevarlo adelante.

A Nora Maidana quien facilitó e incentivó a llevar muestras propias durante el curso de postgrado de diatomeas continentales, permitiendo obtener imágenes del MEB de los lagos que investigué y disipando dudas respecto a las especies de diatomeas encontradas.

A Andrea Rizzo por todos los datos de la sonda, y por tu calidez durante los muestreos.

A Caro SC, Marina G., Mari D. y Marian R. quienes “atajaban” más de una vez los bidones y empezaban a adelantar los litros y litros de agua por filtrar.

A la oficina compartida, de miles de mates y charlas, Diame, Lina, Mariana, Marce y Mari Pueta.

A Dani, Jara, Pato, El negro, Riqui, Juan, Félix y Gabi por los mates de pasillo.

A todos mis compañeros e integrantes de “Salmon y cultura” con quienes compartí muchísimas charlas, risas, mates, asados, almuerzos al sol, almuerzos de a turnos... pero sobretodo, momentos. Daniel, Patito, Marina, Lina, Fabi, Marce, Dani M., Gaby, Félix, El Negro, Mary, Mariana, Clau, Gonza, Riqui, Pato, Diame, Caro S, Caro M, Zai, Sharon, Sole.

A Bariloche y la Patagonia, por mostrarme una faceta mía que desconocía.

A mi psicóloga, Gloria.

A mis amigas *de siempre* que están a la distancia: Luciana, Pia y Lucía.

A Nico, mudarse a Bariloche fue más fácil juntos.

A Caro Martinez, que siempre estuvo con un mensajito preguntando como venía.

A Aldi y Maty Zyl con quien compartí todos estos años a base de mensajes y memes.

A Ale A. compañera de doctorado y muuuucha catarsis.

A Dani G. por todos los mates y charlas.

A los amigos que hice en Bariloche con quienes comparto tanto y son la familia elegida:

A Sele y Clau por su apoyo, amistad y todas nuestras wunderbalsam nights.

A Vero y Juampi por todas las escaladas y paseos compartidos, por ver el mundial juntos y ser cabuleros.

A Anita mi vecina y amiga más cool, con quien trotabamos en el patio en plena pandemia.

A Dai y Rodri por todas las cenas, charlas y paseos compartidos.

A Diame y Caro por ser las hermanitas del labo y fuera de él amigas. Gracias Diame por atajarme en este post-operatorio, con comidita y compañía.

A Marina G. y Carito S. por todas las charlas y mates.

A Marce B. por incentivarirme a ir a la montaña, pero no en invierno y nevando.

A Carito y Exe por las charlas y catarsis. Especialmente por recordarme que “los buenos” se quedan en maestría como Maestro Yoda, y los villanos hacen doctorados como el “Dr. Octopus”.

A Bruno que me alegró y acompañó los últimos meses, cuando sentía que no podía más.

A mis amigos casi hermanos:

A Agustín H, mi gran amigo desde niños, te quiero y adoro a tu familia, Pau y Luquitas.

A Lucas, quizás el más colgado y con quien compartí charlas infinitas y audios cantando.

A Maru L. a quien extraño y digo siempre que tengo que ir a conocer su casa en Ushuaia, quizás ahora si haya llegado el momento de ponerme al día, te quiero brujita.

A Luciana C. mi malaleich preferida que tanto me escuchó, y al potus que me regalaste y nunca llegó a Bariloche, te quiero mucho.

A Lucila, quizás la mejor definición de amistad sea nuestro vínculo. Desde el primer día del CBC hasta el último de la carrera, con distancias difíciles de sortear hasta Dunedin, literal del otro lado del mapa. Por las miles de videollamadas de desayuno/cena y todo el apoyo y risas compartidos. Mentiría si dijese que nunca pensé en mudarme a NZ para verte más seguido, y compartir más risas. Gracias por siempre estar.

A Vero porque nunca perdimos el contacto a pesar de tu miedo a que esté lejos, porque me apoyaste mucho en mis decisiones y me alentaste a ser mejor. Porque te vi ejercer la maternidad de cerca y luego de lejos, Mile y Eli, las amo.

A Juli -mi marida- por todo lo compartido y las múltiples catarsis, por todos los fines de semana perdidas en la montaña, o bajando el López en culo patín, o escalando.

A mi familia...

A Milo, mi gatihijo, mi compañero incondicional que más de una vez con sus ronroneos calmó todo mi stress.

Mis abuelos Nelly y Cesar que amo y siempre están, que me bancaron en la licenciatura con amor, mucho amor, y ahora a la distancia.

A mi abuelo el tano, que ya no está, pero que siempre decía que Bariloche era como su querida Italia.

A mis tíos Gra, Jor, Dani, Ceci, Ale, Gus, Luis y Gus Medina.

A mis primos que siempre acompañaron, y nunca entendieron muy bien que hacía, Eric, Dani, Gabi, Anto y en especial a Emma a quien vi crecer por videos y fotos.

Por último, esta tesis se la dedico en especial a mis tres pilares de la vida, a mi hermana Ani a quien admiro y amo, y con quien tuve la suerte de sortear las distancias como con nadie, e incluso hacer viajes juntas. Y a mis otros dos pilares, mis ma-padres, que me bancaron la decisión de irme lejos, y perseguir mis sueños, a pesar de todo el dolor y tristeza que generó mi decisión. Contar con ustedes siempre me animó a no rendirme, los amo y les estoy

eternamente agradecida por el amor, apoyo y compañía. Por los valores que me inculcaron que me hacen ser quien soy.

Soy muy afortunada.

Glosario de Términos Relevantes

a_{350} : Coeficiente de absorción a 350 nm

a_{440} : Coeficiente de absorción a 440 nm

BIX: Índice de MOD recientemente sintetizada Carbono

C1 Componente 1 = MáxA + MáxM

C2 Componente 2 = MáxA + MáxC

C3 Componente 3 = MáxT

Cla: clorofila a

COD: carbono orgánico disuelto DAPI

EEM “Emission Excitation Matrix” = Matriz de Excitación - Emisión

HIX Índice de humificación

K_{dPAR} : coeficiente de atenuación de la radiación fotosintéticamente activa vertical difusa

MO: materia orgánica

MOD: materia orgánica disuelta

MODC: materia orgánica disuelta coloreada

MODF: materia orgánica disuelta fluorescente

N: nitrógeno

NDT: nitrógeno disuelto total

NOD: nitrógeno orgánico disuelto

NH_4 : amonio

NO_2 : nitrito

NO_3 : nitrato

NT: nitrógeno total

P: fósforo

PDT: fósforo disuelto total

PRS: fósforo reactivo soluble

PT: fósforo total PUFA:

$S_{275-295}$: pendiente espectral del intervalo de 275-295 nm, inversamente proporcional al tamaño molecular de la MOD

STS: sólidos totales en suspensión

SUVA: Coeficiente de absorción específica de la MODC a 254 nm

TRA: tiempo de residencia del agua

SiO_2 : sílice disuelto

$Z_{máx}$ = profundidad máxima

*Dedicado a mi familia y amigos,
mis imprescindibles*

CAPÍTULO I

Introducción General



I.1 Introducción general

Los lagos son recursos naturales invaluable para la humanidad. Existen unos 100 millones de lagos en el mundo (Downing et al., 2006; Verpoorter et al., 2014), los cuales contienen alrededor del 87% del agua dulce líquida de la superficie terrestre. Estas masas de agua se encuentran en diferentes regiones, desde zonas tropicales hasta áreas montañosas y polares. A pesar de abarcar solo el 0,8% de la superficie de la Tierra (Gleick, 1996), su importancia radica en el papel que ejercen en los ciclos biogeoquímicos a nivel global (Tranvik et al., 2018). Además, su contribución a la biodiversidad es fundamental (Abell et al., 2011) ya que albergan al menos 100.000 especies, lo que representa casi el 6 % de todas las especies descritas (Strayer & Dudgeon, 2010), muchas de las cuales son endémicas. La biodiversidad de los ambientes acuáticos continentales es primordial para que estos ecosistemas puedan mantener a largo plazo las funciones y los procesos que sustentan los servicios ecosistémicos que brindan. Los lagos son fuentes importantes de agua potable y alimentos. Se utilizan para la agricultura y la generación de energía hidroeléctrica. Son la principal fuente de agua para la industria y el comercio en muchos países, lo que impulsa el desarrollo socioeconómico de estos. Además, ofrecen servicios de regulación como la atenuación de contaminantes, y servicios culturales como la recreación y el turismo, siendo claves para el desarrollo turístico de muchas regiones (Reynaud & Lanzaova, 2017).

En concordancia con la importancia de estos ecosistemas para la humanidad, los lagos se encuentran entre los sistemas naturales más sobreexplotados del mundo y entre los más impactados por el cambio climático a nivel global. La contaminación, la eutrofización, el cambio climático y la sobreexplotación han provocado una disminución generalizada de la calidad del agua alrededor del mundo, con consecuencias negativas para la biodiversidad y la salud humana (Schindler, 2006; Smith, 2003; Smith & Schindler, 2009). Además de los efectos perjudiciales de la eutrofización, la anoxia, la mortandad de peces y el deterioro de la calidad

del agua, hoy en día existe consenso sobre los impactos negativos del cambio climático en los ecosistemas acuáticos continentales. Estos incluyen cambios significativos en: variaciones en la superficie de los lagos debido a fluctuaciones en las precipitaciones, incremento en la temperatura del agua, cambios en la estratificación térmica y pérdida de la cobertura de hielo en los lagos de altas latitudes o de alta montaña, entre otros. A su vez, esos cambios conllevan importantes e igualmente complejos efectos sobre la física, la química y la biología acuática (O'Reilly et al., 2015; Vincent et al., 2009; Wang et al., 2018; Woolway et al., 2020). De hecho, los lagos están influidos por fuerzas extrínsecas y procesos intrínsecos que determinan su comportamiento. El estudio de estas fuerzas y de sus respuestas es fundamental para el desarrollo de una comprensión predictiva de la dinámica de los lagos (Adrian et al., 2009).

Debido a su importante sensibilidad, rápida respuesta y su capacidad de reflejar, incorporar e integrar cambios ocurridos en su cuenca de drenaje y en la atmósfera circundante, los lagos resultan buenos indicadores del cambio ambiental (Adrian et al., 2009; Williamson et al., 2009). Sin embargo, los lagos han demostrado una amplia heterogeneidad en las respuestas al cambio climático, siendo estas explicadas por la enorme variabilidad en las características morfométricas de los lagos, su posición en el paisaje, su estado trófico, su ubicación biogeográfica (lagos templados, lagos tropicales o boreales), las características de la cuenca de drenaje y el clima regional, entre otros factores (Adrian et al., 2009).

Dentro del ecosistema acuático, el fitoplancton desempeña un papel fundamental, y numerosos estudios han demostrado que esta comunidad se ve afectada por el cambio climático. Dentro de los impactos más significativos sobre el fitoplancton de aguas continentales se encuentran cambios en la abundancia, en la composición y distribución de la comunidad (Ahonen et al., 2023; Winder & Sommer, 2012). Asimismo, cambios en la fenología (magnitud y patrones temporales) también han sido relacionados con el cambio climático (Moe et al., 2022; Thackeray et al., 2008). Por otro lado, la eutrofización puede provocar cambios en la

comunidad fitoplanctónica siendo afectada por el cambio climático (Nazari-Sharabian et al., 2018; Thackeray et al., 2008; Zhu et al., 2010).

Aunque se han documentado y modelado cambios en la estructura térmica, así como en la biomasa fitoplanctónica y la fenología de varios grandes lagos del hemisferio norte (p.e. Coats et al., 2006; Hampton et al., 2008; Tirok & Gaedke, 2007; Verburg et al., 2003; Winder & Schindler, 2004), proporcionalmente se sabe muy poco sobre las consecuencias físicas y ecológicas de un clima cambiante en los grandes lagos templados de Sudamérica (Patagonia chilena y argentina) y Nueva Zelanda (Bayer, 2013). Los lagos de la región andino-patagónica tienen un gran potencial como centinelas del cambio climático, debido a que son sistemas oligotróficos prístinos, con un impacto humano moderado o mínimo (Sosnovsky et al., 2020). Además, estos sistemas están sujetos a una disminución sostenida de las precipitaciones (Pessacg et al., 2020) y al aumento de las temperaturas a nivel regional (Barros et al., 2015; Garreaud et al., 2013; Masiokas et al., 2008; Pessacg et al., 2020; Piccolroaz et al., 2020). En cambio, los lagos templados del hemisferio norte muestran la compleja interacción entre el cambio climático y los factores de estrés antropogénicos, lo que dificulta la interpretación de los efectos de las señales climáticas (Evans et al., 2006).

Los lagos andino-patagónicos presentan características distintivas en comparación con los lagos templado-fríos del hemisferio norte, como variaciones estacionales de temperatura del agua que conforman termoclinas profundas debido a la gran fuerza del viento (Baigún & Marinone, 1995), y mucho menor impacto humano. En estos sistemas, con bajo impacto antrópico, el agua proveniente del deshielo de la nieve y de los glaciares suele constituir una parte importante de los flujos de entrada de diversas sustancias orgánicas e inorgánicas (Baigún & Marinone, 1995; Perakis & Hedin, 2002; Queimaliños et al., 2019). Por lo tanto, es probable que los efectos del cambio climático en estos lagos del hemisferio sur, o la velocidad con la que estos suceden, difieran de los efectos en sus homólogos de Europa y EEUU, donde se

encuentra la mayor población y producción. Cabe destacar que para estos últimos se dispone de la mayoría de los datos detallados y del seguimiento a largo plazo de los impactos antropogénicos sobre los ambientes lacustres.

Las diversas características físicas, químicas y biológicas de los lagos responden a la variabilidad climática regional. La posición de los lagos en el paisaje y las características de la cuenca pueden desempeñar un papel importante en la configuración de los patrones de respuesta a cambios ambientales (Baines et al., 2000). Para poder predecir el impacto del cambio climático en estos lagos, es crucial comprender y estudiar primariamente sus respuestas a las variaciones climáticas estacionales de la región. Por esta razón, hay un creciente interés en considerar la dinámica conjunta de los lagos en un contexto paisajístico, ya que esta variación revela forzamientos y respuestas medioambientales comunes, y permite extrapolar los resultados (Kratz et al., 1997; Magnuson et al., 1990; Soranno et al., 2015).

Aunque algunas características de los lagos, como la temperatura superficial del agua, suelen ser sincrónicas en una región debido a un clima compartido (Baines et al., 2000), la sincronía en otras propiedades puede variar a diferentes escalas temporales. Por ejemplo, se ha observado que el COD varía de manera sincrónica entre lagos dentro de ciclos anuales e interanuales, siendo explicada en gran medida por factores externos (Walter et al., 2023). En relación con las variables biológicas, Anderson et al. (2019) encontraron que la abundancia del zooplancton y la biomasa del fitoplancton pueden mostrar sincronía en múltiples escalas temporales. No obstante, otros estudios han destacado que los niveles más bajos de sincronía en la dinámica del fitoplancton pueden indicar la mayor importancia de factores locales en el control de las poblaciones locales, aunque la sincronía de las clases de fitoplancton más abundantes pueden estar mayormente relacionadas con la sincronía ambiental (Zanon et al., 2019).

Por otro lado, la dinámica de la clorofila *a* tiende a ser más específica de cada localidad, dificultando la extrapolación a otras áreas (Rhodes & Jonzén, 2011; Zanon et al., 2019; entre otros). Estos hallazgos plantean interrogantes que deben ser considerados en futuras investigaciones con el fin de comprender de manera más profunda las respuestas de los lagos al cambio ambiental.

I.1.2 Fitoplancton y sus implicancias ecológicas

El fitoplancton es un grupo extremadamente diverso de microorganismos fotosintéticos adaptados a vivir en suspensión aparente en masas de agua turbulentas (Reynolds, 2006). Constituyen los principales productores en la mayoría de los ecosistemas acuáticos, y son responsables de casi la mitad de la producción primaria neta mundial (Field et al., 1998). Estos organismos presentan una amplia variedad de formas y tamaños que fluctúan en varios órdenes de magnitud (Finkel et al., 2010; Hillebrand et al., 1999; Stanca et al., 2013) y pueden clasificarse en categorías de tamaño (picoplancton $<2\ \mu\text{m}$; nanoplancton $2\text{-}20\ \mu\text{m}$ y microplancton $>20\ \mu\text{m}$, Sieburth et al., 1978). El tamaño celular del fitoplancton se correlaciona con diversos rasgos ecofisiológicos, como la utilización de nutrientes y luz, y la resistencia a los herbívoros (Litchman & Klausmeier, 2008), lo que ha llevado a reconocer la estructura de tamaño como un *rasgo maestro* (Borics et al., 2020).

Tanto la abundancia, como la estructura comunitaria del fitoplancton tienen efectos significativos en los niveles tróficos superiores y en procesos biogeoquímicos clave (Litchman et al., 2007). Al ser la base de la red trófica en su función de productores primarios, el fitoplancton desempeña un papel fundamental en la dinámica del ecosistema, y es crucial para predecir y gestionar las respuestas de este ante cambios locales y globales (Guinder et al., 2010).

Los ambientes pelágicos se caracterizan por una gran heterogeneidad estacional en términos de disponibilidad y distribución de recursos para el fitoplancton, así como en los procesos físicos que influyen en la dirección e intensidad de los movimientos del agua (Reynolds, 1997). La dinámica de los estratos a su vez se encuentra estrechamente vinculada al clima y desempeña un papel importante en estos procesos (Jovanović et al., 2017). A lo largo de las estaciones, factores como la temperatura, la luz y la disponibilidad fluctuante de nutrientes ejercen presiones selectivas que afectan la distribución de las comunidades fitoplanctónicas a lo largo de gradientes ambientales (Litchman et al., 2010).

Por otro lado, los enfoques basados en rasgos morfológicos se utilizan cada vez más para explicar y predecir la distribución de las comunidades fitoplanctónicas a lo largo de gradientes ambientales (Kruk et al., 2010; Litchman & Klausmeier, 2008; Margalef, 1978; Naselli-Flores & Barone, 2011; Padisák et al., 2009; Reynolds, 1988, 2002; Salmaso & Padisák, 2007; Weithoff, 2003). Estos enfoques se basan en agrupar especies según rasgos adaptativos compartidos, independientemente de su relación taxonómica (Simberloff & Dayan, 1991). De estos rasgos, el tamaño tiene la mayor importancia en la determinación de los nichos ecológicos del fitoplancton (Litchman & Klausmeier, 2008), ya que influye en procesos fisiológicos como el crecimiento (asimilación de luz y nutrientes) y la pérdida (sedimentación y pastoreo) (Morabito et al., 2007).

Los organismos fitoplanctónicos de menor tamaño presentan ventajas como una menor velocidad de sedimentación, una mayor relación superficie-volumen (en adelante, S:V), que permite una mayor tasa de absorción de nutrientes por unidad de biomasa (Smith & Kalff, 1982), una tasa máxima de crecimiento más elevada (Banse, 1976) y una mayor eficiencia en la absorción de la luz (Kirk, 1994), sin embargo, son más susceptibles al pastoreo (Van Donk, 1997). A medida que los organismos algales aumentan de tamaño, su relación S:V disminuye, especialmente si mantienen una forma esférica (Naselli-Flores & Barone, 2011). Un mayor

tamaño conlleva ventajas en términos de motilidad, almacenamiento y persistencia, lo que aumenta su capacidad para controlar la posición vertical, acceder a recursos nutritivos no disponibles para otras especies y evitar el pastoreo, lo que resulta en una mayor tasa de supervivencia (Reynolds, 2006). Existe una tercera posibilidad que representa un compromiso favorable entre las dos anteriores: algas grandes con una forma distorsionada que maximizan la superficie que delimita un citovolumen dado (Reynolds, 1997). Esta plasticidad morfológica está directamente relacionada con el mantenimiento de una relación S:V óptima, que es el factor más influyente en la forma del fitoplancton (Reynolds, 2006).

I.3 Análisis de la comunidad fitoplanctónica

Tradicionalmente, el análisis de la estructura de tamaños y composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica se realiza a través de identificación, recuentos y medición bajo microscopio, tal como lo que se presentará en el **Capítulo III** de esta Tesis Doctoral. Sin embargo, este tipo de abordaje representa una tarea costosa que conlleva mucho tiempo y recursos humanos especializados, lo que dificulta la realización de estudios a largo plazo con alta frecuencia temporal y en múltiples lagos de una región determinada. Una metodología muy utilizada que se complementa con los recuentos bajo microscopio es la determinación de los pigmentos fitoplanctónicos a través de cromatografía líquida de alta presión (HPLC de su sigla en inglés). Numerosos estudios han demostrado la eficacia de esta técnica para describir la composición taxonómica (Descy et al., 2000; Mackey et al., 1996; Schlüter et al., 2006; Wang et al., 2021) y la estructura de tamaños de la comunidad fitoplanctónica en ambientes acuáticos continentales y marinos (Hirata et al., 2008; Uitz et al., 2006; Vidussi et al., 2001).

El análisis de pigmentos fitoplanctónicos mediante HPLC es más rápido y, en algunos casos, más preciso que el análisis microscópico para determinar grupos taxonómicos (clases) y

fracciones de tamaño (pico, nano y micro). La justificación de la utilización de los pigmentos fitoplanctónicos para determinar la composición y la estructura de tamaños de la comunidad radica en que ciertos pigmentos pueden ser asignados a un grupo fitoplanctónico en particular. Sin embargo, si bien existen algunos marcadores inequívocos para algunas clases de fitoplancton (p.e. peridina en dinoflagelados) muchos pigmentos son compartidos por más de un taxón de algas (p.e. fucoxantina en diatomeas, cromistas y nanoflagelados) (Roy et al., 2011). A pesar de estas limitaciones, las proporciones de las concentraciones de pigmentos específicos en relación con la concentración de la clorofila *a* proporcionan una indicación útil de las contribuciones de ciertas clases de fitoplancton en una población mixta, ya que estas proporciones pueden diferir entre grupos taxonómicos. Sin embargo, el análisis de los pigmentos fitoplanctónicos sigue requiriendo un tiempo significativo para su procesamiento y determinación, así como personal especializado, instrumentación específica, insumos y estándares de pigmentos para su calibración.

En contraposición, la estimación óptica de la comunidad fitoplanctónica mediante medidas de absorción, fluorescencia y reflectancia, es una metodología que permite obtener datos con una alta frecuencia (Ling et al., 2018; Uitz et al., 2015; Xi et al., 2015). En particular, el uso de los espectros de absorción del fitoplancton para estimar la composición taxonómica o la estructura de tamaño de la comunidad de fitoplancton se fundamenta en que diferentes especies de fitoplancton poseen pigmentos distintos que absorben luz en diferentes longitudes de onda. Al medir los espectros de absorción de los pigmentos dentro de las células es posible identificar los grupos taxonómicos presentes en la comunidad (Martínez-Guijarro et al., 2009; Organelli et al., 2017; Zhang et al., 2018) o la floración de una especie fitoplanctónica en particular (Leong & Taguchi, 2006; Millie et al., 2002). Además, la firma espectral del fitoplancton proporciona información sobre la estructura de tamaño de la comunidad, relacionándose esta con la pendiente espectral del espectro de absorción (Hirata et al., 2008). Por otro lado, la

absorción del fitoplancton contribuye a la reflectancia de la luz en los sistemas acuáticos, y esta puede ser medida de manera remota mediante satélites multiespectrales e hiperespectrales, lo que permite monitorear la comunidad fitoplanctónica en grandes áreas oceánicas y lacustres. No obstante, el solapamiento de los distintos pigmentos y el efecto de empaquetamiento (debido a cambios en el tamaño celular y/o a cambios en la concentración intracelular de pigmentos como respuesta a la fotoaclimatación) pueden actuar conjuntamente y complicar la descripción óptica de la comunidad fitoplanctónica. En este sentido, la interpretación de la información contenida en los espectros de absorción resulta fundamental para desarrollar modelos predictivos robustos. La descripción óptica de la comunidad fitoplanctónica y los modelos predictivos de la biomasa total y de los principales grupos taxonómicos se desarrollará en el **Capítulo IV** de esta Tesis.

I.4 Importancia particular de las variables físicas y químicas

Muchas de las propiedades químicas específicas de un lago reflejan la dinámica del paisaje, y los cambios en estas variables pueden servir como indicadores de procesos terrestres que, de otro modo, serían difíciles de detectar (Adrian et al., 2009). Los cambios en las concentraciones y proporciones de nutrientes y de materia orgánica en los lagos pueden ser consecuencia de alteraciones en la exportación terrestre relacionadas con influencias climáticas en las tasas de precipitación y escorrentía (Bergström & Jansson, 2006; Rogora et al., 2003; Sommaruga-Wögrath et al., 1997), la frecuencia de incendios (Kelly et al., 2006; Westerling et al., 2006) o la productividad primaria terrestre (Boisvenue & Running, 2006). Además, los procesos internos como los relacionados con cambios en la estructura térmica y/o en la productividad primaria también pueden afectar las concentraciones de nutrientes y la calidad y concentración de la materia orgánica disuelta (Jeppesen et al., 2005; Wilhelm & Adrian, 2008). Sin embargo, en muchos lagos resulta difícil determinar el papel de los cambios internos y de la cuenca en la química del agua. El tipo de lago está asociado con el efecto de estos factores, por ejemplo

los lagos profundos tienen la peculiaridad de que los estratos profundos son naturalmente más ricos en una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos implicados en los ciclos de C, N, P y S (Catalan et al., 1992), mientras que las aguas superficiales, al tener condiciones de alta luminosidad pueden aumentar la concentración de productos de fotorreactividad (Bracchini et al. 2010; Catalan et al., 2006; Garcia et al., 2020; Soto Cárdenas et al., 2018), jugando un importante rol ecológico en la dinámica del fitoplancton (Callieri et al., 2007; Queimaliños & Diaz, 2014). De hecho, las aguas continentales han sido reconocidas como importantes reguladores del procesamiento de C a lo largo del continuo acuático tierra-océano (Battin et al., 2009; Biddanda, 2017; Cole et al., 2007; Tranvik et al., 2009) y el funcionamiento de los lagos controla el transporte y la transformación del C, tanto lateral (transporte hidrológico) como vertical (emisión y sedimentación), actuando como un componente significativo del ciclo global del C (Cole et al., 2007; Engel et al., 2018; Tranvik et al., 2009).

En particular, la materia orgánica disuelta (MOD) es la principal reserva de C orgánico en los ambientes acuáticos (Wetzel, 2001). Y cumple un papel fundamental como regulador ecosistémico ya que influye en diversos procesos fotobiogeoquímicos (Mostofa et al., 2013; Wetzel, 2001), controla la transparencia del agua, incrementa la disponibilidad de nutrientes, y sirve como sustrato para microorganismos (Aiken, 2014). Con respecto al clima óptico de los ecosistemas acuáticos, la MOD regula la intensidad y la calidad de la luz que incide en la columna de agua (Blough & Del Vecchio, 2002), influyendo sobre la producción primaria del sistema (Jones, 1992) y sobre la estratificación de la columna de agua por afectar la distribución de la temperatura (Mopper & Kieber, 2002). Además, la MOD constituye una fuente de nutrientes en los sistemas acuáticos, donde se ha demostrado que el N orgánico disuelto (NOD) es una fuente significativa de N para el fitoplancton marino (Fagerberg et al., 2009), y lacustre (Kissman et al., 2013), o bien aumenta las concentraciones de N inorgánico a través de su mineralización (Sipler & Bronk, 2015). Asimismo, el C suministrado por la MOD es utilizado

por el plancton heterotrófico (bacterias y zooplancton) así como también por el fitoplancton mixotrófico (Karlsson et al., 2007).

En los lagos, la MOD puede ser de origen interno por exudado de algas y de macrófitas (MOD autóctona), o de origen alóctono (MOD alóctona) proveniente del sistema terrestre circundante (Wetzel, 2001). La MOD alóctona deriva de la degradación de compuestos en el suelo provenientes de las plantas superiores (Tranvik, 1992), y puede ser dominante en muchos ambientes. La contribución de la MOD alóctona en los lagos está directamente vinculada con las propiedades hidrogeomórficas. Por ejemplo, lagos con mayor relación perímetro:área (que aumenta a medida que el tamaño del lago disminuye) y un tiempo de residencia del agua (TRA) más corto presentan mayores valores de aloctonía (Webster et al., 2008). Los ingresos de la MOD alóctona a los lagos se ven fuertemente influenciados por las precipitaciones, lo que indica que las variaciones climáticas pueden tener efectos profundos sobre las variables físicas, químicas y biológicas de los lagos (Adrian et al., 2009). Por lo tanto, el paisaje, el clima y la hidrología ejercen un claro control sobre el ingreso de la MOD a los ecosistemas acuáticos, y por ende el cambio climático tiene efectos significativos sobre los ecosistemas al incrementar las temperaturas y alterar los patrones de precipitaciones.

El incremento del estado trófico, resultado de los aportes de nutrientes provenientes de la cuenca, determina el alcance y la productividad disponible para los niveles tróficos superiores (Moss, 2012; Smith & Schindler, 2009). La mezcla vertical tiene importantes consecuencias en la proporción de nutrientes que pueden ser reciclados anualmente desde los estratos profundos hasta la superficie. Todos estos factores están estrechamente interrelacionados con la periodicidad de las condiciones climáticas, el régimen hidrológico, el alcance de la mezcla, la interacción entre organismos y la distribución temporal y espacial de los principales iones y nutrientes (Lerman et al., 1995; Stumm & Morgan, 1996). Por lo tanto, desde este punto de vista conocer la estructura de la columna de agua y de la dinámica de mezcla en lagos profundos

resulta crucial para evaluar el reabastecimiento invernal de nutrientes en las capas eufóticas superiores (Goldman & Jassby, 1990).

La dinámica estacional del fitoplancton en sí misma puede regular la concentración de nutrientes o modificar la proporción de nutrientes por selectividad (Xie et al., 2003). Además del nitrógeno y el fósforo, el sílice (SiO_2) también determina la composición de las algas y, sobre todo, limita el predominio de las diatomeas (Sommer, 1988). Los modelos predicen que la riqueza de especies sigue el gradiente de recursos, y la diversidad puede aumentar cuando varios recursos están disponibles para varias especies, o disminuir en casos de disponibilidad extrema o agotamiento de nutrientes (Stevenson, 2014).

En este sentido, la dinámica del fitoplancton responde a la inestabilidad proporcionando un amplio abanico de estrategias adaptativas dirigidas a afrontar condiciones ambientales variables impulsadas principalmente por los movimientos del agua (Glibert, 2016). La forma en que se mueven las masas de agua dentro de los ecosistemas acuáticos lénticos depende en gran medida de su exposición al viento, de su morfología (por ejemplo, desarrollo de la línea de costa, batimetría, superficie, volumen, extensión de los afluentes, etc.), y de los efectos del clima local expresados por su ubicación geográfica (Imberger, 1998) y el uso del suelo (Katsiapi et al., 2012).

Según una revisión reciente realizada por Naselli-Flores y colaboradores (Naselli-Flores et al., 2022), los complejos procesos físicos que gobiernan el movimiento del agua en los ecosistemas acuáticos están influidos por las características intrínsecas y locales de las masas de agua, las cuales contribuyen a aumentar la variabilidad del escenario físico (Elliott et al., 2001; Padisák et al., 2010). El fitoplancton está evolutivamente adaptado a estas condiciones en los ecosistemas acuáticos altamente dinámicos, donde el movimiento del agua desempeña un papel central en el acceso a los recursos necesarios para su crecimiento y dispersión (Huisman et al.,

2004; MacIntyre, 1998; Naselli-Flores & Barone, 2000; Reynolds, 1973, 1976a, b; Rodrigo et al., 1998; Winder et al., 2009). Por lo tanto, gran parte de las características desarrolladas por las especies fitoplanctónicas se reflejan en la plasticidad morfológica dentro de las poblaciones, formadas por organismos unicelulares altamente variables que se agrupan en agregados con diferentes números de células. Aunque aún queda mucho por comprender sobre los procesos que gobiernan el desarrollo del fitoplancton, resulta importante considerar tanto el papel evolutivo de la variabilidad ambiental en los rasgos morfológicos del fitoplancton (Kruk et al., 2010; Reynolds et al., 2002, entre otros), como la importancia y el papel de la calidad físico y química del entorno donde estos organismos se desarrollan (Reynolds, 1998). En tal sentido, la descripción del escenario físico y químico de los lagos estudiados, contemplando la variación estacional y espacial (estratos de la columna de agua y dos lagos distintos) se efectúa en el **Capítulo II** de esta Tesis.

I.5 Caso de estudio

La zona andina del Norte de la Patagonia incluye una amplia región lacustre con numerosos lagos profundos y someros que pertenecen al Distrito Lacustre Glacial (Iriondo, 1989). Los lagos andino-patagónicos profundos son sistemas extremadamente claros, y poseen profundidades máximas superiores a los 90 m (Alonso et al., 2004). Para este estudio, se seleccionaron dos lagos profundos ultraoligotróficos conectados entre sí: el lago Moreno Este (ME) y el lago Moreno Oeste (MO), pertenecientes al complejo del lago Moreno ubicado en la cuenca del Nahuel Huapi (Alonso et al., 2004). Estos lagos, por su ubicación geográfica y baja densidad poblacional (Sosnovsky et al., 2020) pueden reflejar y funcionar como sistemas de referencia sobre la ecología de los lagos profundos en esta región. Además, ofrecen la oportunidad de estudiar los ciclos biogeoquímicos (Wetzel, 2001) y la interrelación entre los ecosistemas acuáticos y terrestres (Pace et al., 2004, 2007). También permiten analizar la

respuesta de la comunidad fitoplanctónica a lo largo de las estaciones a través de muestreos simultáneos en ambos lagos.

Objetivo General del trabajo y estructura de la Tesis

Objetivo General

En base a los antecedentes nombrados previamente y al conocimiento teórico disponible, el Objetivo General de esta Tesis es conocer y caracterizar la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y las forzantes ambientales que controlan su dinámica en los lagos Moreno Este y Moreno Oeste. Para ello, se realizó un abordaje integral en base al estudio de parámetros climáticos, morfométricos y de la dinámica de variables físicas y químicas, y ópticas de los lagos. En particular, el fitoplancton fue analizado utilizando diferentes enfoques: el taxonómico y de grupos funcionales a través de recuentos bajo microscopio, el análisis pigmentario aplicando técnicas de cromatografía de alta presión (HPLC de su sigla en inglés), y el análisis del espectro de absorción a través de lecturas espectrofotométricas.

Estructura de la Tesis

En el **Capítulo II** de esta Tesis se presentan los principales resultados de los parámetros físicos, químicos y ópticos de los lagos estudiados a lo largo de los 6 muestreos temporales abarcando condiciones climáticas diferentes. En el **Capítulo III** se presenta la diversidad del fitoplancton analizando las fracciones del fitoplancton (pico, nano y microfitoplancton). Se estudió la abundancia taxonómica, la biomasa y la composición de grupos funcionales [siguiendo las clasificaciones de Mitra et al. (2016) y de Reynolds et al. (2002) revisado por Padisák et al. (2009)] a lo largo de la sucesión y dentro de la columna de agua de ambos lagos, así como distintos índices ecológicos (de Shannon, Simpson y Pielou). En el **Capítulo IV** se estudió la absorción particulada y la composición pigmentaria del fitoplancton como herramientas para estimar y describir la variación espacio-temporal de biomasa total fitoplanctónica y de los

principales grupos taxonómicos utilizando regresiones múltiples y distintos métodos de aprendizaje automático. Por último, en el **Capítulo V** se exponen los Principales Resultados y Conclusiones Generales de esta Tesis Doctoral.

I.2 Área de estudio

I.2.1 Ubicación y entorno geográfico de los lagos

Los lagos seleccionados para este estudio, Moreno Este (ME) ($41^{\circ} 05' S$, $71^{\circ} 29' O$) y Moreno Oeste (MO) ($41^{\circ} 03' S$, $71^{\circ} 32' O$), forman parte de un sistema lacustre interconectado que pertenece a la cuenca del Nahuel Huapi, ubicada en el Distrito de Lagos Glaciares de los Andes del Sur (Iriondo, 1989) (Figura I.1A). Este complejo lacustre Moreno (Alonso et al., 2004), incluye a los lagos profundos Moreno Este y Moreno Oeste (Área= 6,14 y 6,10 km²; Z_{máx}= 106 m y 90 m, respectivamente; 769 m s.n.m), como así también a los lagos someros Morenito (Área= 0,28 km²; Z_{máx}=10,5 m) y Ezquerra (Área= 0,04km²; Z_{máx}= 4 m) (Figura I. 1A y B). Los lagos profundos se encuentran conectados entre sí por un estrecho cauce, y tanto el lago ME como el sistema Morenito-Ezquerra desaguan en el MO, el cual descarga sus aguas a través de un pequeño arroyo (0,5 km de largo) al lago Nahuel Huapi, el lago de mayor superficie del norte de la Patagonia Argentina (Área=540 km²) (Figura I. 1A y B). El complejo lacustre está ubicado en una zona suburbana del Oeste del Ejido Municipal de San Carlos de Bariloche, a unos 20 km del centro de la ciudad, y dentro de una zona suburbana de gran atractivo turístico.

La topografía de la región está fuertemente marcada por la presencia de la Cordillera de los Andes y por la actividad volcánica generalizada del Holoceno, y su geomorfología ha sido moldeada por las glaciaciones del Pleistoceno (Veblen et al., 1996). Luego del último retroceso glacial (hace unos 12000-14000 años) se originó el distrito lacustre antes mencionado, que es el más grande de la Argentina (Iriondo, 1989). En este distrito, los lagos grandes y profundos están situados dentro de los valles glaciares en las áreas de piedemonte. En la zona más occidental y cercana al límite con Chile, los valles son más profundos y las montañas poseen mayor altura, que disminuye progresivamente hacia un área de sierra y meseta hacia el este (Queimaliños et al., 2019).

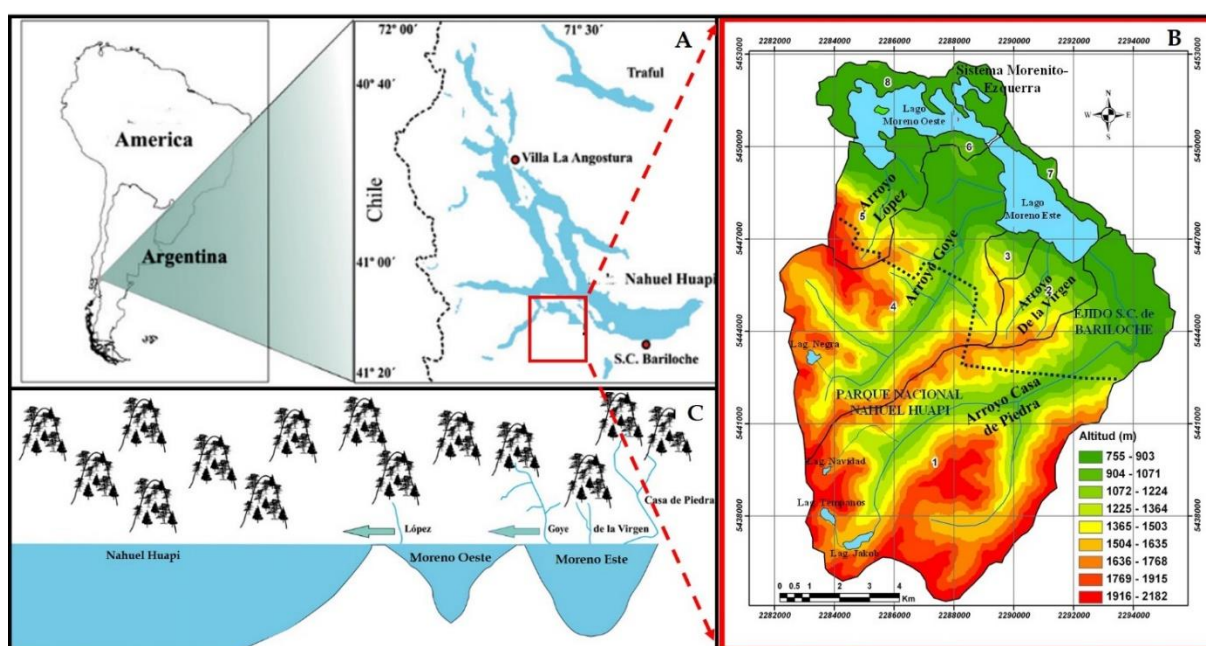


Figura I.1. A-Ubicación geográfica del complejo lacustre Moreno dentro del sistema Nahuel Huapi (norte de la Patagonia, Argentina); B- mapa de relieve y áreas de captación de los lagos Moreno con sus principales afluentes lóticos. Los números indican subáreas dentro de las cuencas de los lagos ME (1 a 5) y MO (6 a 8). La línea punteada marca el límite entre el Ejido Municipal de San Carlos de Bariloche y el Parque Nacional Nahuel Huapi, de la Administración de Parques Nacionales; C: Conectividad entre arroyos y lagos, sentido de circulación del agua entre los lagos según posición en el paisaje. Imágenes tomadas y modificadas de Rapacioli (2011) y Queimaliños et al. (2012).

I.2.2 Características de las cuencas hidrológicas de los lagos Moreno

Las cuencas de estos lagos pedemontanos están conformadas por áreas boscosas y montañosas (hasta 2200 m s.n.m.), con una extensión total de 140 km² y la presencia de cuatro arroyos de montaña (García et al. 2015) (Figura I. 1B). El lago ME recibe a tres de ellos: los arroyos Casa de Piedra y Goye, originados en pequeños lagos de altura, y al arroyo De la Virgen, de primer orden. Mientras que el lago MO tiene un área de drenaje con un patrón distintivo ya que recibe un solo arroyo de primer orden, el arroyo López, así como las aguas de lago ME y del sistema Morenito-Ezquerria (Figura I. 1C).

En cuanto a la cobertura y/o el uso de la tierra en ambas cuencas, el Bosque Andino-Patagónico es la unidad predominante, y cubre un porcentaje similar en los dos casos, 68% de la cuenca

del ME y 73% del MO (Tabla I.1). Desde el nivel de los lagos (769 m s.n.m.) hasta los 900 m s.n.m., está dominado por las especies perennes *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Blume (coihue) y en menor medida por *Austrocedrus chilensis* (D.Don) Florin et Bouteleje (ciprés de la Cordillera), y desde los 900 hasta los 1600 m.s.n.m., por la especie decidua *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser (lenga) (Bessera & Moretti, 1993). Sin embargo, la cuenca del ME posee un mayor porcentaje de afloramientos rocosos en relación con la del MO (Tabla I.1). Estos afloramientos son comunes en altitudes mayores a 1600 m s.n.m., dado que constituye el límite altitudinal para el crecimiento de los árboles (Ferreyra et al., 1998). Cabe aclarar que la superficie de la cuenca del MO se calculó sumando la del ME (Tabla I. 1), ya que se aplicó el concepto de “cuenca acumulada” (Hill et al., 2018) teniendo en cuenta que los lagos están conectados. Otra consecuencia de la conexión entre los lagos se refiere al porcentaje de la superficie de la cuenca que se encuentra cubierta por ambientes lacustres (%Agua) (Kothawala et al., 2014). El porcentaje correspondiente al ME es mucho menor que el del MO (Tabla I.1), debido a que aguas arriba del ME sólo existen pequeñas lagunas de altura, mientras que el MO posee al ME (Figura I. 1B).

Además, desde el punto de vista jurisdiccional, las áreas más elevadas de las cuencas de drenaje de ambos lagos son prístinas en general, y pertenecen al Parque Nacional Nahuel Huapi (PNNH) (Figura I.1C). Las actividades antrópicas en esas zonas están restringidas a caminatas y/o pernoctes en refugios de montaña (Sosnovsky et al., 2020). El impacto ambiental de estas actividades se ha comenzado a visibilizar recientemente, y aún no se cuenta con información sólida sobre su alcance. Los asentamientos humanos representan el 1,5% de la superficie de la cuenca del ME y se encuentran en las zonas bajas, cuya jurisdicción corresponde al Ejido Municipal de S. C. de Bariloche (Tabla I.1, Figura I. 1B). En el caso del MO, el porcentaje de la superficie urbanizada es bastante mayor, alcanzando un 9,3% (Tabla I.1) (Queimaliños et al., 2012).

Tabla I.1. Características de las cuencas de los lagos Moreno Este y Moreno Oeste. Fuente: Rapacioli (2011) y Queimaliños et al. (2012).

	Moreno Este	Moreno Oeste	Relación ME:MO
Características de las cuencas			
Área de drenado (D) (km ²)	116,93	140,32	0,83
% Bosque	68,40	72,50	0,94
% Roca	29,84	12,7	2,35
% Agua	0,36	4,67	0,08
% Área urbana	1,5	9,3	0,16

I.2.3 Características hidrogeomórficas de los lagos

Ambos lagos se caracterizan por tener áreas similares $\sim 6 \text{ km}^2$, y profundidades máximas ligeramente diferentes: 106 m el ME y 90 m el MO (Tabla I.2). Sin embargo, es remarcable que el lago ME tiene el doble de volumen que el MO (Tabla I.2). Esta diferencia se atribuye a que el perfil de la cubeta es muy abrupto (en forma de fiordo), mientras que el MO tiene una cubeta más cónica (Figura I.2). Esta particular diferencia en las formas genera que el volumen por debajo de los 50 m de profundidad sea 4,2 veces mayor en ME que en MO (Queimaliños et al., 2012).

Asociado con esto, el tiempo de residencia del agua (TRA) es 2,34 veces mayor en ME en comparación con MO. Por otra parte, el perímetro y la relación perímetro/área del lago son mayores en MO (Tabla I.2).

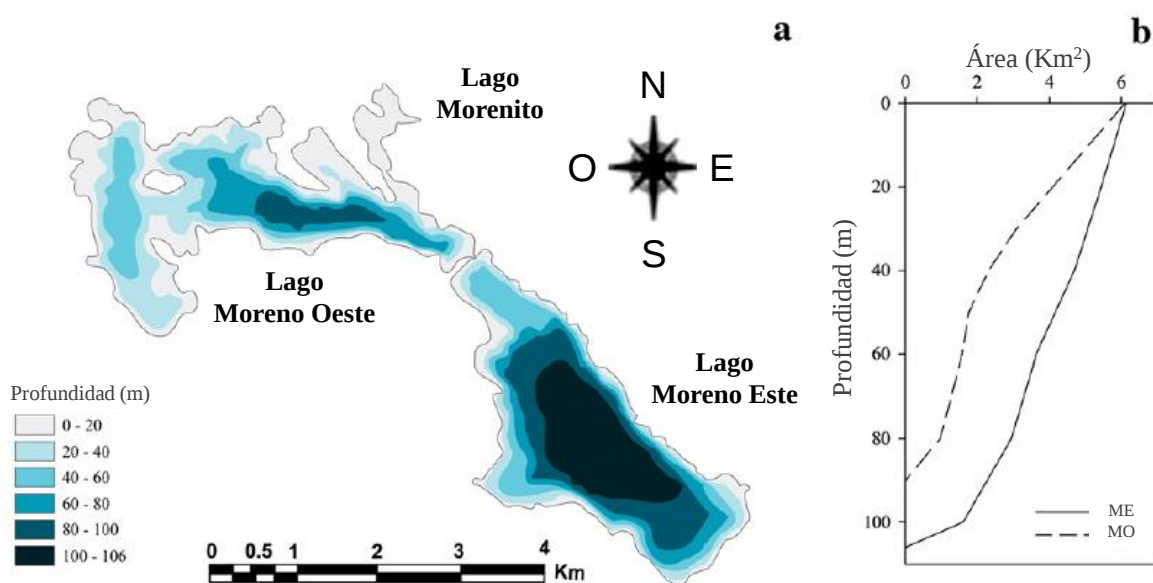


Figura I.2. A: Mapa batimétrico de los lagos Moreno Este y Moreno Oeste; B: curva hipsográfica de cada lago. Imágenes modificadas de Queimaliños et al. (2012).

Tabla I.2. Ubicación geográfica y características hidrogeomórficas de los lagos Moreno Este y Moreno Oeste. Fuentes: Rapacioli (2011) y Queimaliños et al. (2012).

	Moreno Este	Moreno Oeste	Relación ME:MO
Ubicación geográfica	41°03'51" S 71°32'23" O	41°05'33" S 71°29'24" O	
Características hidrogeomórficas			
Área del lago (A) (km ²)	6,14	6,10	1,01
Volumen del lago (V) (hm ³)	411,1	204,54	2,01
Prof. máxima (Z _{máx}) (m)	106	90	1,18
Prof. media (m)	67,0	33,5	2,00
Perímetro (P) (km)	13,3	19,3	0,69
Relación P:A del lago (km ⁻¹)	2,17	3,16	0,69
Volumen eufótico (V _{euf}) (hm ³)	216,93	158,75	1,37
Volumen afótico (V _{af}) (hm ³)	194,20	45,79	4,24
V _{euf} :V _{af}	1,12	3,47	0,32
Caudal (m ³ s ⁻¹)	5,68	6,60	0,86
Tiempo de residencia del agua (TRA) (años)	2,29	0,98	2,34
Cociente de drenaje (D/A)	19,04	23,00	0,83

I.2.4 Características climáticas de la región de estudio

El clima de la región es templado-frío, con características oceánico-continentales de transición (Csb según la clasificación climática de Köppen-Geiger). La temperatura promedio anual es de 8°C en el piedemonte (Mermoz et al., 2009), y el régimen de precipitaciones es pluvio-nival con estación seca. Esto conlleva una marcada estacionalidad en las precipitaciones, ya que el 73% de las mismas se concentra entre mayo y agosto (Jobbágy et al., 1995; Paruelo et al., 1998). Los vientos predominantes son del sector oeste-noroeste, originados en el anticiclón del Pacífico Sur (Paruelo et al., 1998). La presencia de la Cordillera de los Andes genera un efecto orográfico sobre estos vientos húmedos provenientes del océano, produciendo un marcado gradiente de precipitaciones de oeste a este. En promedio, la zona de los lagos Moreno presenta una precipitación anual de 1800 mm (Rapacioli, 2011). De esta manera, los inviernos son húmedos y fríos, con presencia de heladas y nevadas, mientras que los veranos son templados y secos. La acumulación de nieve en las zonas más altas contribuye a la formación de paquetes de nieve que permanecen congelados hasta la temporada de deshielo en primavera (Queimaliños et al., 2012).

En concordancia, los mayores niveles de agua de los lagos se observan durante el otoño y el invierno reflejando los episodios de precipitaciones más intensas, mientras que los altos niveles registrados durante la primavera están asociados a los aportes del deshielo. Por el contrario, los bajos niveles de agua coinciden con temperaturas más cálidas y mayores pérdidas por evaporación prevalecientes en la estación seca de verano (Figura I.3, Queimaliños et al., 2012).

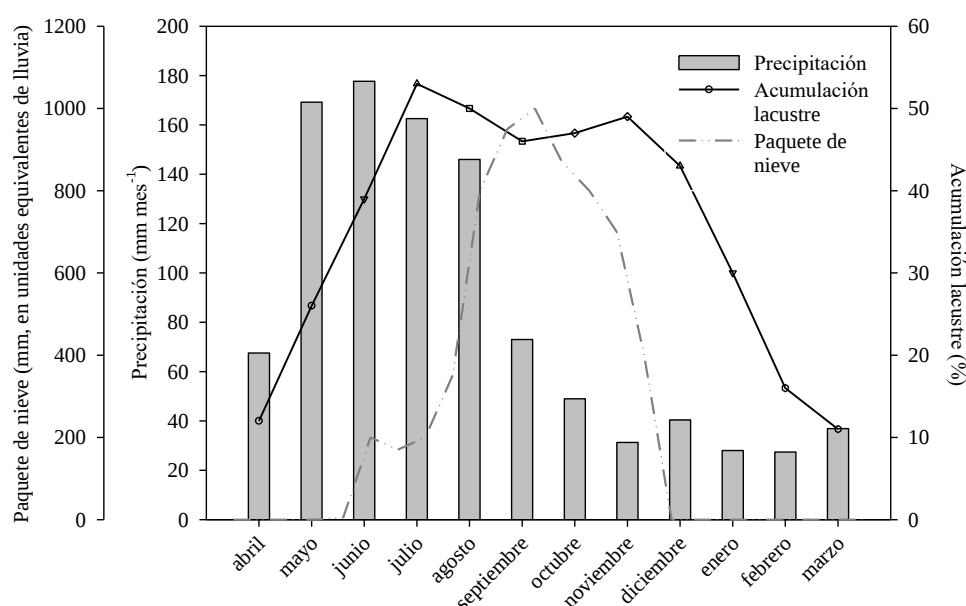


Figura I.3. Patrón de precipitaciones en las cuencas hidrográficas de los lagos Moreno. Datos históricos de precipitación mensual, almacenamiento de agua del lago y contribución de la capa de nieve (datos extraídos de informes publicados por la Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas, AIC). Por el inicio de las lluvias estacionales en el mes de abril, en esta región se considera que el “año hidrológico” se desarrolla entre abril y marzo.

I.2.5 Antecedentes limnológicos de los lagos Moreno

Los estudios limnológicos que se presentan a continuación, en general, han sido realizados en el lago Moreno Oeste. Se dejará explícito cuando se haya incluido al lago Moreno Este.

Régimen térmico

El régimen térmico de los lagos profundos de la región es monomítico cálido (Pedrozo et al., 1993). La estratificación térmica del MO se registra desde finales de primavera hasta principios de otoño, conformándose una termoclina a 30-40 m de profundidad. Las temperaturas oscilan entre los 15 y 17 °C en la capa superior (epilimnion) y un promedio de 7 °C en las capas más profundas (hipolimnion) (Pérez et al., 2002; Queimaliños et al., 1999). Durante el invierno, la columna de agua se vuelve isotérmica y se produce la mixis, con temperaturas del agua de alrededor de 6°C (Rizzo, com. pers.).

Clima óptico

A partir de estudios realizados en el período primavera-verano, la transparencia de PAR (radiación fotosintéticamente activa) y UVR (radiación ultravioleta) en el MO es alta, y la luz penetra profundamente en la columna de agua (zona eufótica: ~ 35 m de profundidad) debido a la baja atenuación de la luz asociada a los niveles extremadamente bajos de COD, que oscilan entre 0,4 y 0,7 mg L⁻¹ (Morris et al., 1995; Queimaliños et al., 2019). Por ejemplo, en el MO el coeficiente de extinción difusa de la radiación fotosintéticamente activa (K_d) oscila entre 0,121 y 0,154 m⁻¹ (Callieri et al., 2007; Pérez et al., 2002; Queimaliños et al., 2002).

Grado de trofía y niveles de nutrientes

Estos cuerpos de agua se han descrito como ultraoligotróficos u oligotróficos (Markert et al., 1997; Modenutti et al., 1998; 2000; Pedrozo et al., 1993). lo que significa que exhiben bajos niveles de nutrientes como nitrógeno y fósforo (Díaz et al., 2007; Queimaliños, 2002; Soto-Cárdenas et al., 2014). Esta oligotrofia extrema que caracteriza a muchos lagos andino-patagónicos se debe más a una deficiencia directa de nitrógeno que a una escasez de fósforo la cual es apenas compensada por la fijación de dinitrógeno (Díaz et al., 2007). Los bajos contenidos de fósforo reactivo soluble (PRS) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID) de los lagos andinos donde los niveles de fósforo biodisponible son generalmente < 10 µg L⁻¹ y, en muchos casos, < 3 µg L⁻¹, que son típicos de lagos oligotróficos (OCDE, 1982) y de los lagos no contaminados del mundo (Meybeck, 1983). Sin embargo, lo más destacable son los niveles de NID de estos lagos, que son diez veces inferiores a la media (Díaz et al., 2007).

En conjunto, las características ópticas y de nutrientes han llevado a que estos lagos sean descritos como entornos de alta luminosidad: bajos en nutrientes (HL:LN por sus siglas en inglés, *high light:low nutrient*, Balseiro et al., 2007, Modenutti et al., 2010), lo cual determina la existencia de nichos y estrategias de nutrición diferentes, donde por ejemplo, la mixotrofia

se presenta como una estrategia adecuada para aprovechar la extensa zona eufótica de la columna de agua (Balseiro et al., 2007). En consecuencia, las diferentes estrategias determinan el zooplancton presente.

Aportes de las cuencas

En un estudio realizado durante 3 años en las cuencas de los lagos Moreno, Garcia et al. (2015) observaron que los arroyos Casa de Piedra y Goye (cuenca ME) tuvieron los mayores caudales, con valores de descarga que variaron entre 0,1 y 4,8 m³/s. En contraste, los arroyos De la Virgen López (cuenca ME) y López (cuenca MO) tuvieron descargas más bajas, variando de 0,02 a 1,8 m³ s⁻¹. En todos los arroyos, los eventos de lluvia fueron seguidos rápidamente por el aumento en la descarga, y también en la concentración de sólidos totales en suspensión (STS) reflejando el aporte de material terrestre por la escorrentía. Los valores de referencia de STS en los arroyos fueron de alrededor de 1 mg L⁻¹, mientras que, durante los períodos de mayor escorrentía, la concentración alcanzó un máximo de 40 mg L⁻¹. Además, las concentraciones de COD (carbono orgánico disuelto), PT y NT se comportaron de manera similar a los STS. La línea de base de las concentraciones de nutrientes fue muy baja en todos los arroyos (siendo de aproximadamente 0,5 µg L⁻¹ y 200 µg L⁻¹ para PT y NT, respectivamente); sin embargo, durante los eventos de lluvia intensa, las concentraciones de PT y NT fueron hasta 10 y 25 veces más altas, respectivamente (Garcia et al. 2015). En línea con estos resultados, un estudio reciente del arroyo Casa de Piedra (afluente del ME) registró una mayor exportación de NT que de PT (Sosnovsky et al., 2020).

Caracterización de la materia orgánica disuelta

En el primer estudio que se realizó en los lagos Moreno Este y Oeste en simultáneo y a lo largo de toda la columna de agua, fue posible determinar que el régimen de precipitaciones ejerce una influencia decisiva sobre la dinámica de la MOD autóctona (Queimaliños et al., 2012).

Durante la época de lluvias, la MODC (MOD cromofórica) que fluye a través de los arroyos e ingresa a los lagos es fundamentalmente de carácter húmico, asociada al lavado del suelo a través de la escorrentía, mientras que durante la primavera prevalecen moléculas de carácter no-húmico (García et al., 2015). Por otro lado, se observaron diferencias en la MOD húmica y no-húmica a lo largo del año y en la columna de agua de ambos lagos, presentando un desacople entre la MODC y la concentración de COD durante la estratificación (Soto Cárdenas, 2015; García et al., 2020). En un estudio reciente, se encontró que la incorporación de la información sobre la firma espectral de la MODC mejora la estimación del COD en lagos someros y profundos andino Norpatagónicos (De Stefano et al., 2022).

Caracterización de las comunidades y de las tramas tróficas pelágicas

La abundancia y la biomasa del fitoplancton suelen ser bajas (rangos de abundancia 100 a 1000 cels. mL⁻¹, Bastidas Navarro et al., 2016), y los ensambles están dominados por nanoflagelados (*Chrysochromulina parva* y *Plagioselmis lacustris*), y por crisofíceas microfitoplanctónicas, dinoflagelados como *Peridinium* spp. y *Gymnodinium* spp., y las diatomeas *Urosolenia eriensis*, *Discostella stelligera*, *Fragilaria* spp. y *Synedra* spp. (Díaz et al., 2000; Queimaliños et al., 2002; Queimaliños & Díaz, 2014). Dada la alta transparencia durante el período de estratificación, en estos lagos se desarrollan máximos de clorofila profundos (DCM, por su sigla en inglés) (Queimaliños et al., 1999; Pérez et al., 2002). Estos DCM están constituidos generalmente por el ciliado mixotrófico *Ophrydium naumanni* y el dinoflagelado *Gymnodinium paradoxum*, junto con algas picoplanctónicas (Queimaliños et al., 1999).

El comportamiento mixotrófico está muy extendido en estos lagos teniendo en cuenta que el fitoplancton está dominado por nanoflagelados mixotróficos como *Chrysochromulina parva* y *Plagioselmis lacustris* (Queimaliños et al., 2002), mientras que la prevalencia de otro ciliado mixotrófico, *Stentor araucanus*, está citada en las aguas epilimnéticas de MO (Modenutti et

al., 2008). El comportamiento bacterívoro de estas especies juega un papel importante en el flujo de energía y en el ciclo de nutrientes en estos ambientes oligotróficos, ya que una ventaja de la mixotrofia es el consumo de bacterias por ser más eficientes en la adquisición de nitrógeno y de fósforo cuando las concentraciones de nutrientes disueltos son bajas (Queimaliños, 2002).

En este contexto, la comunidad zooplanctónica de los lagos Moreno se caracteriza por la presencia de estos grandes ciliados mixotróficos además de especies de rotíferos como *Polyarthra vulgaris*, *Synchaeta pectinata*, *S. kitina* y *Conochilus unicornis*; mientras que la fracción de crustáceos está constituida principalmente por los cladóceros *Bosmina longirostris* y *Ceriodaphnia dubia* y por el copépodo *Boeckella gracilipes* (Alonso et al. 2004; Modenutti et al., 1998; Queimaliños et al., 2012; Reissig et al., 2015). En un estudio estacional, se observó que esta comunidad estuvo dominada por copépodos adultos de *B. gracilipes* la mayor parte del año, particularmente durante el invierno, que la biomasa de rotíferos fue más alta durante el otoño en ambos lagos codominando con *B. gracilipes*, que el cladóceros *C. dubia* aumentó considerablemente durante el período estival, especialmente en el lago Moreno Este, y que *B. longirostris* y copépodos ciclopoideos estuvieron presentes en bajas densidades ($<1,5 \text{ ind L}^{-1}$) durante todo el año (Queimaliños et al., 2012; Reissig et al., 2015).

La diversidad y la densidad de peces son bajas, y se considera que estos lagos ofrecen hábitats de refugio en el litoral o en los hábitats estructuralmente variables del fondo del lago (Barriga et al., 2002; Barriga, 2006), y en la oscuridad asociada a los fondos lacustres más profundos (Milano, 2003; Reissig et al., 2004, 2015; Milano et al., 2006; Vigliano et al., 2018). Se observó que el zooplancton de estos lagos realiza migraciones verticales diarias para evitar la exposición a los rayos UV y minimizar el riesgo de depredación por parte de los peces (Reissig et al., 2015).

CAPÍTULO II

Variables Ambientales



II.1 Introducción

Los lagos son sistemas complejos que se caracterizan por tener una alta diversidad de hábitats interconectados a través de procesos biológicos, físicos y químicos. Estos ecosistemas están bajo la influencia de fuerzas extrínsecas y de procesos intrínsecos que determinan su comportamiento (Schindler & Scheuerell, 2002). Debido a su sensibilidad a los cambios ambientales, los lagos son considerados buenos indicadores del cambio climático global (Adrian et al., 2009; Carpenter et al., 2007; Pham et al., 2008; Williamson et al., 2009). Sin embargo, es crucial tener en cuenta que, incluso dentro de una misma región, los lagos pueden presentar respuestas diferentes a factores climáticos similares. Estas variaciones pueden ser atribuidas a diferencias en las características del entorno terrestre circundante, así como a la morfometría del lago y la conexión con otros cuerpos de agua (Kraemer et al., 2015; Schmeller et al., 2018). Esto se debe, en parte, a que la influencia que tienen los sistemas terrestres está directamente relacionada con las propiedades hidrogeomórficas de los cuerpos de agua (Köhler et al., 2013; Queimaliños et al., 2012; Webster et al., 2008; Weyhenmeyer et al., 2016). Por lo tanto, analizar la morfometría de los lagos y su vínculo con el entorno circundante resulta fundamental para entender su funcionamiento (Mc Cormick, 2012).

En un ecosistema acuático, los ciclos de nutrientes forman parte de procesos biogeoquímicos esenciales que involucran tanto a organismos vivos como a componentes no vivos, abarcando procesos biológicos, geológicos, físicos y químicos (Figura II.1). Estos procesos se pueden categorizar en dos tipos principales: ciclos globales y ciclos locales (Choudhary et al., 2022).

La atmósfera contribuye con una cantidad considerable de nutrientes a los ecosistemas acuáticos a través de la fijación de nitrógeno molecular mediada por organismos (Figura II.1) (Wetzel, 2001), y eventualmente, a través de la deposición seca o húmeda (Zhang et al., 2021). La deposición del nitrógeno (N) atmosférico es una preocupación de alcance global debido al acelerado ingreso de N reactivo a la biósfera como consecuencia de actividades antrópicas. De

hecho, en el hemisferio norte las emisiones de N a la atmósfera han aumentado drásticamente desde las revoluciones agrícola e industrial, lo que ha generado que la deposición de N alcanzada a comienzos de este siglo sea un orden de magnitud mayor que los valores preindustriales (Bergström & Jansson, 2006). Esto ha tenido impactos significativos en la composición de especies y en la dinámica de los ecosistemas receptores (Galloway et al., 2004; Galloway & Cowling, 2002). Por ejemplo, se ha observado un aumento en las concentraciones de N en diversos ecosistemas fluviales, lacustres y marino costeros (p.e. Bergström & Jansson, 2006; Cloern, 2001; Finlay et al., 2007; Goolsby & Battaglin, 2001). Sin embargo, en zonas templadas del hemisferio sur, como por ejemplo en los bosques andino-patagónicos, hasta la fecha no se han registrado estos impactos por tratarse de sistemas alejados y aislados de importantes fuentes antrópicas de N (Adams et al., 2021; Diehl et al., 2003; Perakis & Hedin, 2002; Vivanco & Austin, 2019).

Por otro lado, en asociación con la litósfera, la erosión de las rocas y de los suelos constituye una fuente fundamental de nutrientes para los ecosistemas acuáticos. Entre los nutrientes esenciales liberados por la erosión de las rocas se incluyen calcio, magnesio, potasio, sodio, sílice, hierro, aluminio y fósforo (Kumar & Sekaran, 2014). Los nutrientes en los suelos se encuentran habitualmente asociados con la materia orgánica presente (Martchner & Kalbitz, 2003), que es movilizada desde la cuenca hacia los ambientes acuáticos tanto en forma disuelta como particulada (Williamson et al., 2009). A pesar de que en los suelos la materia orgánica disuelta (MOD) se suele encontrar químicamente inhibida por numerosos procesos de estabilización (Kögel-Knabner et al., 2008), cuando ingresa al sistema acuático su reactividad aumenta (Kalbitz et al., 2005).

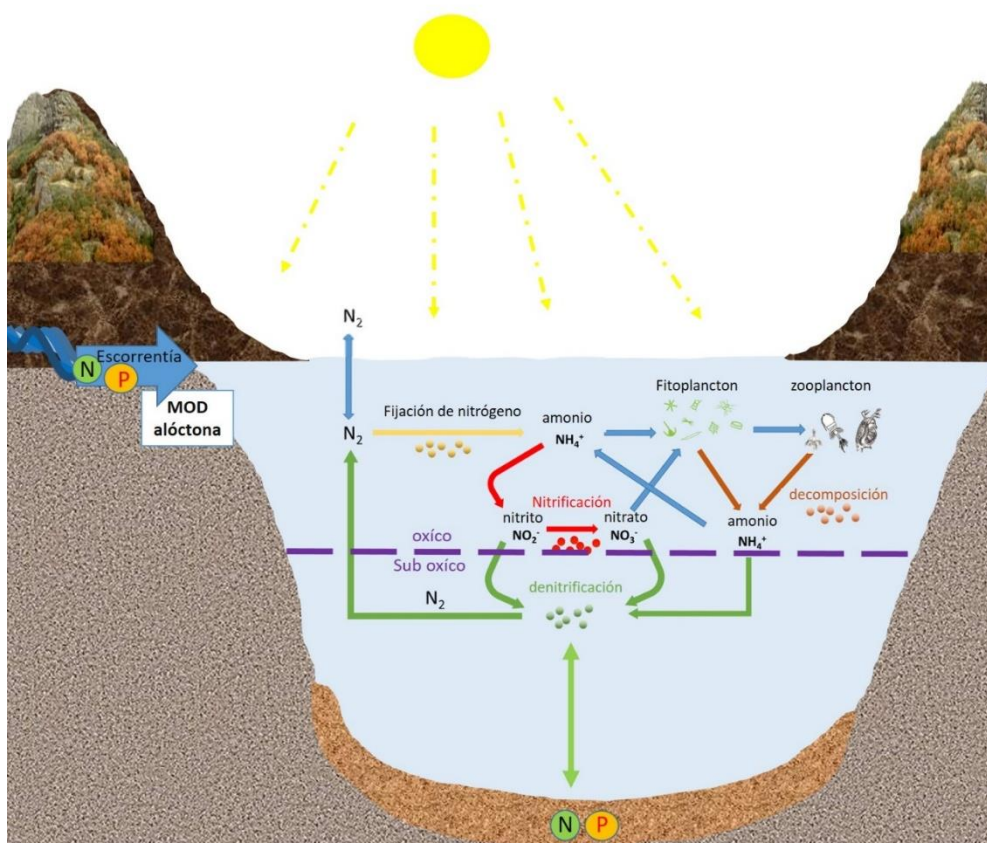


Figura II.1. Esquema simplificado del ciclo del nitrógeno en los lagos. Modificado a partir de P. Webb, RW University.

De esta manera, la MOD alóctona se convierte en una importante fuente de nutrientes, que son utilizados y transformados por procesos internos dentro del lago (Bertilsson & Tranvik, 2000) (Figura II.1).

En este sentido, el análisis de la MOD dentro de los sistemas acuáticos a través de propiedades ópticas como la absorbancia de la MOD cromofórica (MODC) y su fracción fluorescente (MODF), proporciona información valiosa sobre su origen, composición, reactividad y estado diagenético. Estas propiedades ópticas pueden reflejar el origen (alóctono o autóctono), y el grado de mineralización de la MOD debido a la degradación microbiana y/o a la degradación fotolítica o fotodegradación (Del Vecchio & Blough, 2004; Kowalczyk et al., 2009; Zhang et al., 2009). El análisis de la MODC brinda también información acerca del grado de

aromaticidad de la MOD, el contenido de lignina, su color y tamaño molecular (Aiken, 2014). Mientras que el análisis de la MODF permite distinguir entre sustancias húmicas (ácidos fúlvicos y húmicos) y no-húmicas (proteínas, fenoles, etc.), tanto alóctonas o autóctonas (Mostofa et al., 2013), y el estado diagenético (recientemente originada y su grado de humificación) (Zhang et al., 2010). En el caso de la degradación microbiana o biodegradación, su efecto es diferencial dependiendo del tipo de MOD. En general la MOD autóctona es más lábil a la actividad microbiana (Jones, 1992) y por esta razón su absorción disminuye, a diferencia de los ácidos fúlvicos alóctonos que son menos biolábiles. En el caso de la fotodegradación, el efecto de la luz provoca la ruptura de las moléculas, disminuyendo la absorción de la MOD y produciendo moléculas de menor tamaño (Reche et al., 1999). Por estos procesos, el color del agua disminuye su intensidad, razón por la que a este proceso también se lo denomina fotodecoloración (*photobleaching*), y puede cuantificarse a través de la pendiente espectral $S_{275-295}$ que aumenta a medida que disminuye el tamaño molecular (Helms et al., 2008). Todas estas características pueden utilizarse para describir la dinámica de la MOD en los sistemas acuáticos, y permiten deducir la influencia de procesos externos e internos en la degradación de la MOD y en su defecto de los nutrientes asociados. Cabe destacar que las sustancias nitrogenadas de la MOD conforman la fracción del nitrógeno orgánico disuelto (NOD), y sus dinámicas están fuertemente asociadas (Bronk et al., 2007).

Por su parte, la fracción particulada que ingresa a los lagos provenientes de los suelos, asociada a los sólidos totales en suspensión (STS), constituye un sustrato al que los nutrientes (orgánicos e inorgánicos) están unidos por adsorción (Paudel et al., 2009). La liberación de nitrógeno y de fósforo a partir de los STS implica también una fuente importante de ingreso de nutrientes a los lagos. Además, los STS pueden intercambiar sustancias dentro de los ambientes acuáticos durante la resuspensión, o reincorporarse a los sedimentos después de la floculación y la sedimentación (Li & Xuo, 2018).

En particular, los lagos templados tienen una estrecha relación con la variación climática estacional y la magnitud de los aportes de la cuenca en diferentes momentos del año. Por esto, cuando existe una alta conectividad con el paisaje circundante, como durante los períodos de aumento de las precipitaciones y de la escorrentía, se observa claramente la influencia terrestre sobre los sistemas acuáticos al incrementarse el ingreso de MOD, de STS y de nutrientes en arroyos y lagos (Adrian et al., 2009; Garcia et al., 2015; Isles et al., 2017; Pace & Cole, 2002; Van Gaelen et al., 2014).

En este sentido, las concentraciones de nutrientes varían considerablemente entre los lagos. La limitación por nutrientes es una característica común de los sistemas lacustres y el fósforo parece ser, en muchos casos, uno de los principales nutrientes limitantes para la producción primaria (Laybourn-Parry, 2003). El análisis de cocientes entre nutrientes, como por ejemplo la relación con el fósforo total por parte del nitrógeno total, del nitrógeno inorgánico disuelto o del sílice disuelto, permite dilucidar cuál es la fuente y la dinámica de la limitación (Bergström, 2010; Morabito et al., 2012, entre otros).

Por otra parte, la temperatura y la estabilidad térmica de la columna de agua tienen una fuerte relevancia en la regulación de los ciclos fotobiogeoquímicos. De hecho, en lagos profundos los períodos de estratificación térmica o bien los de mezcla vertical (mixis) determinan la evolución anual de las características físicas y químicas a lo largo de la columna de agua, que en su conjunto influyen sobre el desarrollo de la biomasa fitoplanctónica (Salmaso et al., 2003). Más específicamente, las aguas superficiales o epilimnéticas son plausibles de estar dominadas por la degradación fotoquímica de la MOD dado su exposición diferencial a la radiación solar, mientras que en las aguas profundas o hipolimnéticas, la degradación microbiana prevalece (Gonsior et al., 2013). Por otro lado, la extensión de la mezcla vertical tiene consecuencias importantes para la fracción de nutrientes que pueden reciclarse anualmente desde las capas profundas hacia la superficie (Salmaso et al., 2003). Por lo cual, cambios en la estructura

térmica de los lagos tienen impacto directo en las concentraciones de solutos, en los regímenes de mezcla y, en última instancia, en la biomasa fitoplanctónica y la productividad del ecosistema (Oleksy et al., 2020; Peter & Sommaruga, 2017; Roberts et al., 2017). Además, la morfometría del lago influye en la cantidad de MOD que puede ingresar del ambiente terrestre, en la resistencia térmica a la mixis y en los procesos de evaporación, lo que ulteriormente termina afectando la transformación de la MOD (Reche et al., 2000; Williamson et al., 2014).

Dentro del escenario acuático el oxígeno disuelto (OD) es un descriptor ecológico fundamental. Las concentraciones de este elemento en los lagos están fuertemente influidas por la temperatura y la estructura térmica (Hanson et al., 2006), pudiendo indicar efectos de cambios climáticos (Komatsu et al., 2007; Ito & Kazuro, 2015). Se espera que, ante climas más cálidos, los lagos templados profundos experimenten períodos más largos de estratificación estival (Foley et al., 2011; Wagner & Adrian, 2009; Williamson et al., 2009), y esto puede conducir a un agotamiento del oxígeno hipolimnético y a una mayor liberación de P de los sedimentos (Jankowski et al., 2006; Soranno et al., 1997). Las concentraciones de oxígeno en las capas más profundas del agua se consideran indicadores efectivos del cambio climático, ya que tienen impactos significativos en la carga interna de nutrientes (Pettersson et al., 2003), así como en el tamaño del hábitat y la disponibilidad de refugio para los organismos acuáticos (De Stasio et al., 1996; Jansen & Hesslein, 2004). Dado que todos estos factores están estrechamente interrelacionados con la periodicidad de las condiciones climáticas, el régimen hidrológico, el alcance de la mezcla, la interacción entre organismos y la distribución temporal y espacial de los principales iones y nutrientes (Lerman et al., 1995; Stumm & Morgan, 1996), resulta necesario un estudio integrador de los ecosistemas acuáticos a escala de paisaje.

Cabe destacar que la mayor comprensión que se tiene sobre la variación en los procesos lacustres se ha derivado de investigaciones realizadas en los distritos lacustres del hemisferio norte, fundamentalmente en Estados Unidos y Europa (Oleksy et al., 2020; Salmaso & Tolotti,

2021). Estos ambientes tienen características climáticas y de uso de la tierra claramente diferentes a los lagos andino-patagónicos, que se encuentran relativamente poco habitados e intervenidos (Sosnovsky et al., 2020). Además, en comparación con los estudios relativos al ciclo de nutrientes y a la evolución trófica en lagos profundos del hemisferio norte (Stabel, 1986; Salmaso et al., 2003 entre otros), existen pocas investigaciones que estudien específicamente los procesos que influyen en la evolución estacional de las principales variables físicas y químicas en los lagos profundos templados del hemisferio sur. En este contexto, hasta hoy en día solo se cuenta con un reducido número de estudios previos, con más de veinte años de antigüedad, los cuales sentaron las bases del conocimiento de las propiedades físicas, químicas y ópticas de estos lagos (Diaz et al., 1998; 2000; 2007; Markert et al., 1997; Pedrozo et al., 1993; Pérez et al., 2002; Queimaliños et al., 1999, 2012; entre otros).

Los lagos que pertenecen a una misma región poseen características físicas, químicas y biológicas similares. Sin embargo, a pesar de su similitud estos sistemas son muy interesantes para estudiar diferencias en los procesos que acontecen a escalas locales, como por ejemplo en el flujo de materia entre las diferentes cuencas de drenaje y entre lagos con diferentes características morfométricas (Bukaveckas & Robbins-Forbes, 2000; Kratz et al., 1991). En este sentido, la región andina de la Patagonia comprende un extenso distrito lacustre con numerosos lagos profundos de aguas claras de origen glaciar. Estos lagos son oligotróficos o ultraoligotróficos, y se caracterizan también por presentar termoclinas profundas, un alto impacto del viento y a menudo una alta proporción de afluencia originada por deshielo o glaciares, aunque aún resta conocer en más detalle cómo funcionan estos sistemas en relación con de su entorno.

Además, a pesar del destacable estado de conservación de estos lagos, los mismos se encuentran expuestos a diversos impactos antropogénicos como el cambio climático y los causados por la creciente urbanización. Estos factores potencialmente disruptivos se suman a

la propia dinámica del sistema y a la influencia de eventos naturales. En tal sentido, este complejo escenario supone la necesidad de una mirada más profunda de estos sistemas que primariamente nos permita describir en detalle su variación natural física y química, y a partir de esto poder detectar cambios y realizar predicciones.

II.1.1 Objetivos

El presente capítulo se enfocó en una evaluación integral de la dinámica espacio-temporal de los parámetros físicos y químicos de dos lagos profundos andinos norpatagónicos. Este análisis se llevó a cabo de manera concurrente e incluyendo toda la columna de agua, las características hidrogeomórficas (HGM) y del paisaje. Las características propias de cada lago como su morfometría (detallados en el **Capítulo I** –Área de estudio-) fueron ampliados en el presente capítulo.

Esta evaluación resulta clave para representar el complejo escenario donde se desarrolla la comunidad fotótrofa (fitoplancton y ciliados mixotróficos), en función de comprender su dinámica espacial y estacional basada en el análisis de su composición taxonómica y de grupos funcionales (**Capítulo III**).

II.1.2 Hipótesis y predicciones

Las hipótesis y las predicciones planteadas son:

Hipótesis II.1: La marcada estacionalidad climática de la región y las diferentes características HGM de cada lago influyen significativamente sobre la dinámica de la MOD y de los nutrientes en los lagos estudiados.

Predicción: Los lagos presentarán diferencias en cuanto a las concentraciones de nutrientes en función de los aportes de la cuenca. Los períodos hidrológicos estacionales determinarán las diferencias entre las concentraciones de un lago y otro.

Hipótesis II.2: La estratificación térmica en los lagos profundos Moreno Este y Oeste permite el desarrollo de una quimioclina.

Predicción: Las masas de agua profunda que se mantienen aisladas de la superficie por estratificación térmica presentarán una mayor concentración de nutrientes, generando un gradiente de concentración inversa a la profundidad.

Hipótesis II.3: Existen diferencias estacionales en el clima óptico de los lagos que afectan la disponibilidad (dentro de la columna de agua) de los nutrientes para el fitoplancton (estimado como biomasa – Clorofila *a*) debido a los subsidios terrestres y a procesos de estratificación y mezcla dentro de la columna de agua.

Predicción: Al estratificarse en primavera-verano, los lagos tendrán masas de agua que no se mezclan (por diferencia de densidad) y la disponibilidad de nutrientes de la MOD dependerá de procesos de fotodegradación en la zona fótica, y de acción de microorganismos en la zona afótica, favoreciendo al desarrollo del fitoplancton la mayor biodisponibilidad de nutrientes.

II.2 Materiales y métodos

II.2.1 Condiciones meteorológicas durante el período de estudio: temperatura del aire y precipitaciones

Los datos de las precipitaciones se obtuvieron a partir de los informes hidrometeorológicos publicados por la AIC (Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas, Río Negro, Argentina) (AIC, 2019), con datos recogidos en una estación meteorológica situada al suroeste de los lagos Moreno (estación Bahía López). Para investigar la influencia de las precipitaciones sobre el funcionamiento de los lagos, se calcularon las precipitaciones acumuladas durante los 150 días previos a los muestreos considerando que esa ventana temporal resultó ser la más adecuada para explicar el patrón de precipitación natural observado en el área de estudio en trabajos previos (Gerea et al., 2016; Soto Cárdenas et al., 2017).

II.2.2 Características HGM

El análisis de los diversos parámetros hidrogeomórficos de los lagos Moreno Este y Moreno Oeste se realizó en base a lo señalado en estudios previos (Rechencq et al., 2011; Queimaliños et al., 2012) (Tabla I.1), y a los nuevos parámetros que fueron calculados en el marco de esta Tesis Doctoral, tal como la relación dinámica (RD) y el desarrollo del volumen (DV).

La RD y el DV se calcularon siguiendo la metodología propuesta por Håkanson (2012). La RD es un parámetro morfométrico que está asociado con el grado de resuspensión de los sedimentos en los lagos. Esta relación permite diferenciar entre la erosión de los sedimentos causada por la acción del viento las olas, y su eventual transporte aguas abajo, de aquellos impulsados por procesos de pendiente (fuerzas gravitacionales de sedimentación). Valores de RD entre 0,05 y 4 indican un predominio de erosión y transporte de sedimentos causados por el viento, mientras que valores inferiores a 0,05 indican un predominio de los procesos de pendiente (sedimentación) (Håkanson, 2012). Este parámetro se calcula según la siguiente fórmula:

$$RD = \frac{\sqrt{A}}{Z_{media}}$$

donde A corresponde al área de la superficie del agua (en Km²) y Zmedia es la profundidad media del ambiente lacustre (en m).

Por otra parte, DV se refiere a la relación entre el volumen del lago y el volumen de un cono que tiene la base de igual área que la superficie del lago y la altura igual a la profundidad máxima del lago, según la siguiente relación (Hutchinson, 1957):

$$DV = 3 \cdot \frac{Z_{media}}{Z_{máx}}$$

donde Zmedia es la profundidad media, y Zmáx es la profundidad máxima de cada cuerpo de agua.

El desarrollo del volumen describe la forma del lago, por lo que también se lo conoce como **factor forma**. Al relacionar el volumen del ambiente lacustre respecto al volumen de un cono, los lagos con forma muy convexa tienen valores de DV bajos y viceversa. El DV es mayor en lagos profundos con fondos planos. Entre lagos profundos, lagos de caldera, lagos graben y lagos de fiordos, el DV será mayor que 1,5 (también en muchas cuencas rocosas). La mayoría de los lagos en roca fácilmente erosionable tienen DV bajos, en el rango de 1 a 1,5 (Håkanson, 2012).

Los datos del nivel del agua fueron obtenidos a partir de la instalación de un limnógrafo en el lago ME en colaboración con el DPA (Departamento Provincial de Aguas-Río Negro).

II.2.3 Frecuencia de muestreo, mediciones *in situ* y obtención de las muestras de agua

Los muestreos fueron realizados en los lagos Moreno Este y Oeste de manera concurrente en seis fechas y con una frecuencia estacional (cada 3-4 meses), abarcando un período total de 513 días (17 meses) entre noviembre de 2017 y abril de 2019. Para ambos lagos, los puntos de muestreo se establecieron en el sector de mayor profundidad.

Cabe destacar que para facilitar la comprensión de los resultados obtenidos se hará referencia a las fechas según las estaciones y el año de la siguiente manera, entre paréntesis se señala la forma abreviada que se utilizará en los gráficos):

27/11/2017	Primavera 2017 (P-17)
13/04/2018	Otoño 2018 (O-18)
31/07/2018	Invierno 2018 (I-18)
31/10/2018	Primavera 2018 (P-18)
10/01/2019	Verano 2019 (V-19)
23/04/2019	Otoño 2019 (O-19)

Sin embargo, la referencia a estaciones climáticas no implica necesariamente el mismo escenario desde el punto de vista limnológico. En particular, los otoños y las primaveras son períodos de transición, mientras que el invierno y el verano son relativamente constantes. Por

su condición de monomítico cálidos, ambos lagos están mezclados durante todo el invierno, y durante todo el verano se encuentran estratificados. En cambio, los otoños están muy ligados a la transición estacional de las lluvias y a la ruptura de la estratificación, pudiendo encontrarse grandes diferencias dependiendo del momento en que se muestrea y de la ocurrencia de las lluvias. Algo equivalente sucede con la primavera, el período de transición y establecimiento de la estratificación depende de múltiples factores, y las diferencias volumétricas remarcen los patrones en cada lago, que se explicarán más detalladamente en este Capítulo. Además, se debe considerar que en este estudio los muestreos correspondientes a la primavera fueron realizados con aproximadamente un mes de diferencia entre los años sucesivos (fines de noviembre de 2017 y fines de octubre de 2018). Por esa razón, en algunas ocasiones se hace referencia a la primavera de 2017 como primavera tardía, y a la de 2018 como primavera temprana.

Las variables físicas y químicas de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), conductividad ($\mu\text{S cm}^{-1}$), pH y oxígeno disuelto (OD , mg L^{-1}) fueron medidas *in situ* a lo largo del perfil de cada lago utilizando una sonda portátil multiparamétrica (YSI 6600), y los datos de irradiancia “*downward*” (hacia abajo) utilizando un radiómetro sumergible Eldonet (Real Time Computers, Inc.). Las variables conductividad, pH e intensidad lumínica pudieron ser medidas *in situ* sólo en los primeros tres muestreos debido a desperfectos en los correspondientes sensores. Los datos de irradiancia en la columna de agua fueron estimados de una manera alternativa, como se explicará más adelante en la sección II.2.5.2.

Las muestras de agua fueron obtenidas con un muestreador limnológico Kemmerer de 4,2 litros de capacidad, comenzando desde la superficie (1 m) y cada diez metros hasta 100 m en el ME y 80 m en el MO. En cada profundidad de muestreo se obtuvieron 12 litros de agua, que fueron almacenados en bidones plásticos. Estos recipientes fueron lavados con ácido clorhídrico al 10% y enjuagados con abundante agua destilada en el laboratorio, y luego fueron enjuagados con agua del mismo lago antes de comenzar con la recolección. Las muestras se mantuvieron

térmicamente aisladas y en oscuridad hasta su procesamiento en el laboratorio donde se determinaron las concentraciones de los sólidos totales en suspensión (STS) y de la fracción particulada, de Clorofila *a* (Cla) y de otros pigmentos fotosintéticos, de carbono disuelto, inorgánico y orgánico (CID y COD, respectivamente) e incluyendo la caracterización de la MOD, y de nutrientes totales y disueltos (P, N, SiO₂).

II.2.4 Determinaciones de laboratorio

Una vez en el laboratorio, se procedió a fraccionar cada muestra de agua en diferentes volúmenes en función de realizar diversas determinaciones, asignando: (i) 3 L para el análisis de sólidos totales en suspensión (STS), (ii) 2 L para determinar la concentración de Cla, (iii) 500 mL de muestra fueron fijados con Lugol acético (al 2%) para el análisis del fitoplancton (ver detalles en Capítulo III), (iv) otros 3 L para el análisis pigmentario por HPLC (ver detalles en Capítulo IV), (v) 500 mL para determinar los nutrientes totales, y (vi) 700 mL se filtraron para estimar las concentraciones de CID, de COD y caracterizar la MOD, y también para estimar la concentración de nutrientes disueltos.

II.2.4.1 Determinación de Sólidos Totales en Suspensión (STS)

Un volumen de 3 L fue filtrado por filtros de fibra de vidrio (GF/F, 0,7 µm) pre-muflados (mufla, 500 °C) y pre-pesados en balanza analítica. Posteriormente, los filtros se secaron en estufa a 60 °C por 48 h y se pesaron nuevamente para obtener el peso asociado a las partículas en suspensión (peso final del filtro menos el peso inicial del filtro) (APHA, 2005). La concentración de STS fue calculada como la diferencia de peso entre los filtros, sobre el total de agua filtrada.

Sin embargo, fue evidente que para obtener diferencias medibles entre los pesos de los filtros se requería filtrar volúmenes mayores a 3 L. Debido a que por cuestiones logísticas no era posible trabajar con volúmenes mayores ni realizar la filtración para todas las profundidades

muestreadas, se decidió aplicar una metodología de estimación de STS a partir de variables ópticas, que es más sensible y adecuada para lagos oligotróficos. Esta metodología se detalla en la sección II.2.5.3.

II.2.4.2 Determinación de Clorofila *a* (Cla)

Para determinar la concentración de Cla, se filtraron 2 L de cada muestra a través de filtros GF/F y se realizó una extracción de los pigmentos retenidos en los filtros utilizando como solvente etanol 90 % (Nusch, 1980). La concentración de Cla fue determinada por espectrofotometría antes y después de acidificar el extracto con ácido clorhídrico 0,1 N, y aplicando las fórmulas propuestas por Nusch (1980).

II.2.4.3 Determinación del carbono disuelto

Concentraciones de CID y de COD

A partir de muestras filtradas a través de filtros PVDF de 0,2 μm de tamaño de poro, las concentraciones de CID y de COD fueron determinadas con un Analizador de Carbono Shimadzu TOC-L (Shimadzu Corp., Japón). El equipo realiza la medición de la concentración de CID sobre una muestra acidificada, sin exponerla al proceso de oxidación. En cambio, la concentración de COD, utilizada como estimador de la concentración de MOD, se determinó como carbono orgánico no-purgable mediante el método de oxidación catalítica a altas temperaturas. El analizador está equipado con un catalizador de alta sensibilidad, que posee un límite de detección de 4 $\mu\text{g C L}^{-1}$. Las concentraciones de COD son la resultante de 3 a 5 inyecciones de 400 μL , con un coeficiente de variación ($\text{CV} < 2 \%$).

Caracterización de la MOD

La caracterización de la MOD se llevó a cabo utilizando mediciones complementarias de espectroscopía UV-Visible y de fluorescencia. Estas técnicas proporcionan una descripción

rápida y sencilla de la MOD cromofórica (MODC) y fluorescente (MODF), respectivamente, utilizando una muestra pequeña de agua natural filtrada a través de filtros de 0,22 μm . Ambas técnicas permiten estimar diversas características de la MOD, como el tamaño molecular y el grado de aromaticidad. Sin embargo, es a partir de la fluorescencia que se puede obtener más información acerca de las propiedades de la MOD, ya que es posible conocer la proporción de moléculas de diferente naturaleza química, denominadas fluoróforos. A continuación, se brindan detalles de cada uno de los métodos.

Espectrometría UV-Visible (Caracterización de la MODC)

Las determinaciones espectrofotométricas se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro UV Visible (UV 1800, Shimadzu). Las absorbancias fueron determinadas sobre las muestras de agua filtrada, utilizando una cubeta de cuarzo de 10 cm de longitud de paso de luz y midiendo un espectro completo desde 200 hasta 800 nm con intervalos de 1 nm. Se utilizó agua MilliQ como blanco de referencia. La absorbancia promedio entre 700 y 800 nm fue sustraída en cada espectro para corregir el efecto de línea de base del instrumento (Green & Blough, 1994; Helms et al., 2008). Luego, las unidades de absorbancia fueron convertidas a coeficientes de absorción como sigue:

$$a = 2,303 \text{ Abs}/l$$

donde a = coeficiente de absorción Neperiana (m^{-1}), Abs = absorbancia, y l = longitud de la cubeta (m).

Se calcularon tres coeficientes de absorción ($a\lambda$) en tres longitudes de onda (254, 350 y 440 nm) y se usaron como indicadores de las propiedades de MODC (Helms et al., 2008). Las absorbancias normalizadas por la concentración de COD, $a_{254}:\text{COD}$ (normalmente indicado como SUVA) y $a_{350}:\text{COD}$ (a^*_{350}) se calcularon como indicadores de la aromaticidad de la MOD y del contenido de lignina (trazadores del COD de origen terrestre), respectivamente,

y se expresaron en $L\ mg\ C^{-1}\ m^{-1}$ (Waiser & Robarts, 2004; Weishaar et al., 2003). La absorbancia a 440 nm (a_{440}) estima el color del agua, cuanto mayor el valor, mayor la concentración de MOD alóctona (Carpenter et al., 2005; Pace et al., 2007). A su vez, la pendiente espectral para el intervalo 275–295 nm ($S_{275-295}$) se calculó a partir de los espectros de absorción ajustando los datos espectrales transformados logarítmicamente a un modelo lineal y se expresó como un número positivo en nm^{-1} (Helms et al., 2008). La pendiente $S_{275-295}$ es sensible al peso molecular de la MODC, ya que la MODC de alto peso molecular tiene una $S_{275-295}$ más baja y es indicativa de un origen terrestre, mientras que las pendientes más altas indican una MODC de bajo peso molecular, generalmente relacionada con procesos de fotodegradación (Fichot & Benner, 2012; Helms et al., 2008; Stedmon et al., 2011).

Espectroscopía de fluorescencia (Caracterización de la MODF)

La espectroscopía de fluorescencia molecular es una técnica más sensible comparada con la espectrometría UV-Visible, y se utiliza para caracterizar la MOD con mayor precisión (Hudson et al., 2007; Stedmon & Bro, 2008). Su fundamento radica en que cuando un electrón no-apareado es excitado a un nivel de energía mayor, por ejemplo, por un fotón, la fluorescencia se produce cuando el electrón regresa a su “estado fundamental” y la energía que se libera se emite como luz. Las longitudes de onda en las que se producen la absorción (excitación) y la emisión son específicas de cada molécula (Lakowicz, 1999). Las moléculas aromáticas son especialmente fluorescentes debido a su estructura electrónica no-apareada. Por lo tanto, las moléculas fluorescentes más estudiadas en las aguas naturales son los ácidos húmicos, derivados de la degradación biológica y química del material vegetal, tanto en los ambientes terrestres como en los acuáticos, los ácidos fúlvicos y los aminoácidos presentes en proteínas y péptidos (Hudson et al., 2007; Stedmon et al., 2003).

El análisis de la MODF permite distinguir entre sustancias húmicas (ácidos fúlvicos y húmicos) y no-húmicas (proteínas, fenoles, etc.), ya sean alóctonas o autóctonas (Mostofa et al., 2013), y el estado diagenético de la MOD (recientemente originada y su grado de humificación) a través de índices específicos: índice biológico e índice de humificación (BIX y HIX de sus siglas en inglés, respectivamente) (Zhang et al., 2010), y a través del análisis de matrices de excitación-emisión (EEMs por su sigla en inglés), que permiten conocer la composición de los fluoróforos de la MOD (Aiken, 2014; Stedmon & Bro, 2008).

En este trabajo, las mediciones para caracterizar la fracción fluorescente de la MODF fueron realizadas sobre las muestras filtradas a través de los filtros PVDF de 0,22 μm , utilizando un espectrofluorómetro Perkin-Elmer LS55 equipado con una lámpara de Xenón de 150-W. El procedimiento fue realizado a una temperatura constante de 20°C, controlada por un termostatizador Peltier, y utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm. Todos los datos de fluorescencia fueron expresados en unidades Raman (RU por su sigla en inglés). Se aplicaron métodos independientes para caracterizar la MODF: espectros de Emisión que se utilizaron para calcular los índices de fluorescencia BIX y HIX, y matrices de excitación-emisión. El detalle de las mediciones de los índices y de las matrices se encuentra en el [Anexo](#) al final de este Capítulo.

II.2.4.4 Análisis de nutrientes (P, N, Si)

Las concentraciones de nutrientes totales, fósforo total (PT) y nitrógeno total (NT), se determinaron a partir de las muestras de agua sin filtrar. Mientras que la fracción de nutrientes disueltos como fósforo disuelto total (PDT), fósforo reactivo soluble (PRS), nitrógeno disuelto total (NDT), amonio (NH_4), nitrato (NO_3), nitrito (NO_2) y sílice soluble (SiO_2) se determinaron a partir de las muestras de agua filtradas por 0,22 μm . Para las determinaciones de PT y PDT,

las muestras fueron digeridas con persulfato de potasio a 125°C y 1,25 atm de presión durante 1 hora (APHA, 2005). Las concentraciones se estimaron mediante el método de reducción con ácido ascórbico y molibdato de amonio (complejo amarillo) y posterior lectura espectrofotométrica (APHA, 2005). La determinación de PRS se realizó aplicando el mismo método, pero sin digerir las muestras (APHA, 2005). Para las determinaciones de NT y NDT, las muestras fueron digeridas con una solución de persulfato de potasio en hidróxido de sodio 1,5 N a 125°C y 1,5 atm durante media hora (Bachmann & Canfield, 1996). Posteriormente, las muestras se acidificaron con ácido sulfúrico concentrado. Las concentraciones de NT y NDT se estimaron a partir de la lectura espectrofotométrica de las muestras acidificadas (Bachmann & Canfield, 1996). La concentración del nitrógeno inorgánico disuelto (NID) fue estimada como la suma de NH_4 , NO_3 y NO_2 , mientras que la concentración de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) se calculó como la resta entre NDT y NID, mientras que la diferencia NT-NDT otorgó el valor del nitrógeno particulado total (NPT) (Wetzel & Likens, 2000). El sílice soluble (SiO_2) se midió también siguiendo a Wetzel & Likens (2000).

II.2.5. Procesamiento de los datos y cálculos

II.2.5.1 Índice de estabilidad de Schmidt (SSI)

Los índices de estabilidad se utilizan para medir la resistencia del lago a la mezcla. En particular, el Índice de Estabilidad de Schmidt (SSI) (Idso, 1973; Schmidt, 1928) cuantifica la estabilidad de toda la columna de agua, o de manera equivalente, la resistencia de la estratificación a la perturbación por el viento (Wetzel, 2001). Así, el SSI de un lago es una estimación de la cantidad idealizada de energía necesaria para mezclar todo el lago a una temperatura uniforme sin añadir ni restar calor (Schmidt, 1928). Idso (1973) modificó el SSI originalmente propuesto para reducir los efectos del volumen del lago y normalizar la energía

de mezcla requerida por unidad de área. El cálculo del SSI modificado por Idso (1973) se basa en la siguiente fórmula:

$$SSI = \frac{g}{A_0} \sum_{Z_0}^{Z_{\text{máx}}} (Z - Z_{\rho m}) (\rho_z - \rho_m) A_z \Delta Z \quad (1) \text{ (en J m}^{-2}\text{)}$$

donde A_0 es la superficie del lago, ρ_m es la densidad media, $Z_{\rho m}$ es la profundidad donde se encuentra la densidad media (centro de gravedad del lago), A_z es el área a la profundidad Z , Z_0 es la profundidad de la superficie del agua, $Z_{\text{máx}}$ es la profundidad máxima, Δz es el espesor de la capa, $A_z \Delta z$ es el volumen de la capa. El centro de masa $Z_{\rho m}$ y la densidad media ρ_m se estiman mediante las ecuaciones 2 y 3, respectivamente.

$$Z_{\rho m} = \frac{1}{\sum_{Z_0}^{Z_m} \rho_z A_z \Delta Z} \sum_{Z_0}^{Z_{\text{máx}}} \rho_z Z A_z \Delta Z \quad (2)$$

$$\rho_m = \frac{1}{\sum_{Z_0}^{Z_{\text{máx}}} A_z \Delta Z} \sum_{Z_0}^{Z_{\text{máx}}} \rho_z A_z \Delta Z \quad (3)$$

Los valores de densidad del agua fueron obtenidos a partir de los datos de temperatura a lo largo de la columna de agua en cada fecha de muestreo.

II.2.5.2 Estudio del clima óptico de los lagos

Se caracterizaron los climas ópticos a partir de variables ópticas aparentes (irradiancias y coeficientes de atenuación) y variables ópticas inherentes (coeficientes de absorción de los diferentes componentes ópticamente activos). El análisis de los espectros de absorción de la comunidad fotótrofa se presenta en el Capítulo IV.

Determinación de las propiedades ópticas aparentes

Coeficientes de atenuación (K_{dPAR})

Durante varios muestreos, se encontraron inconvenientes en la medición *in situ* de la atenuación espectral vertical difusa de la luz en la columna de agua de manera precisa debido a la influencia del viento, a la dispersión y a la nubosidad variable durante las mediciones, y a que no se contaba con un sensor de referencia ubicado sobre la superficie del agua. Para sortear esta limitación y obtener una caracterización completa del clima lumínico a lo largo del tiempo, se adoptaron dos enfoques diferentes.

En primer lugar, se consideró que en los lagos oligotróficos la transmisión de la luz está mayormente controlada por la MODC (Gerea et al., 2016, entre otros). Por lo tanto, se estimó la transparencia del agua utilizando los coeficientes de absorción de MODC para una longitud de onda de referencia de 440 nm (a_{440}).

Por otro lado, se utilizó el modelo óptico de Kirk (Kirk 1981, 1984, 1994) para modelar el coeficiente de atenuación difusa. Este modelo calcula propiedades ópticas aparentes en función de propiedades ópticas inherentes. Para el cálculo de los $K_{d\lambda}$ se utilizaron los valores de a_t , b_t y μ_0 . Donde a_t es el coeficiente de absorción total determinado como la suma de los espectros de absorción del agua pura, de la MODC y de las sustancias particuladas (fitoplancton y detrito), b_t es el coeficiente de la dispersión total determinado como la suma de los espectros de dispersión del agua pura y de las sustancias particuladas, y μ_0 es calculado a partir del ángulo zenital utilizando la Ley de Snell (Belzile et al., 2002). Este ángulo fue calculado teniendo en cuenta la fecha, la hora y la latitud según Kirk (1994). Por otro lado, los parámetros g_1 y g_2 son dos valores constantes (Belzile et al., 2002). Se determinó el K_d para cada nm (λ) del espectro utilizando la siguiente fórmula:

$$K_{d\lambda} = \frac{1}{\mu_0} (a_{t\lambda}^2 + (g_1 \cdot \mu_0 - g_2) \cdot a_{t\lambda} \cdot b_{t\lambda})^{0.5}$$

*Para el cálculo del K_{dPAR} (PAR, sigla en inglés de Radiación Fotosintéticamente Activa), se integraron los K_{dPAR} de acuerdo con Belzile et al. (2002).

Cálculos de irradiancia por profundidad (I_z)

El cálculo de la irradiancia en diferentes profundidades de la columna de agua (I_z) se estimó a partir de los valores de luz incidente en superficie obtenidos de la página del observatorio solar de la NASA (<https://power.larc.nasa.gov>), considerando el valor promedio de una semana de ventana de la fecha de muestreo. La estimación de la irradiancia como función de la profundidad se realizó siguiendo a Helbling et al. (1994):

$$I_z = I_0 \frac{1 - e^{-K_{dPAR} \cdot z}}{K_{dPAR} \cdot z}$$

donde I_0 es la irradiancia lumínica en la superficie del lago; K_{dPAR} es el coeficiente de la atenuación espectral de la radiación fotosintéticamente activa, y Z es la profundidad.

Determinación de la zona eufótica y de la zona de mixis

La profundidad de la capa eufótica (Z_{eu}) se calculó como la profundidad que a la que llega el 1% de la irradiancia incidente en superficie (Wetzel, 2001). Para ello se consideró el K_{dPAR} de cada lago en cada fecha.

Además, se calculó la relación entre la profundidad de mezcla y la profundidad de la zona eufótica ($Z_{mix}:Z_{eu}$), porque se considera una buena aproximación al clima lumínico subacuático ya que indica la proporción de tiempo que las células fitoplanctónicas pasan en condiciones de poca luz cuando se encuentran en la columna de agua mezclada (Naselli-Flores & Barone, 2007). La profundidad de la capa de mixis (Z_{mix}) se calculó como la zona desde la superficie hasta la profundidad donde el gradiente de temperatura excedía $1^{\circ}\text{C} \times \text{m}^{-1}$ (Wetzel, 2001). En los casos en que toda la columna de agua estuvo homeoterma, se consideró que Z_{mix} fue igual a la profundidad máxima de los lagos.

II.2.5.3 Coeficientes de absorción de partículas no pigmentadas (a_{435}) como estimador de turbidez

Los espectros de absorción de la materia particulada [$a_p(\lambda)$, m^{-1}] se midieron siguiendo la técnica conocida como “filter pad technique” (Trüper & Yentsch, 1967). Para ello se filtró un volumen de 3 L a través de filtros GF/F de 47 mm de diámetro. Las densidades ópticas de las sustancias particuladas totales en el filtro (DO_f) se midieron sobre los filtros húmedos, y como blanco se utilizaron filtros nuevos humedecidos sólo con agua Milli Q.

Los valores de los coeficientes de absorción de las sustancias particuladas totales [$a_p(\lambda)$], fueron calculados según Mitchell (1990), aplicando la siguiente fórmula.

$$a_p(\lambda) = 2,3 \cdot DO_s(\lambda) \cdot A / (V \cdot \beta)$$

donde V es el volumen filtrado, A es el área de filtrado y DO_s(λ) es la densidad óptica de las partículas en suspensión. Los valores de absorbancia a los 750 nm fueron restados a todos los espectros de absorción dado que las sustancias particuladas no presentan absorbancias importantes en ese rango de longitudes de onda (Bricaud & Stramski, 1990). Los valores de densidad óptica de partículas en suspensión fueron convertidos en coeficientes de absorción aplicando un factor de amplificación (β) siguiendo la relación obtenida por Bricaud & Stramski (1990). Para ello se aplicó la siguiente fórmula:

$$\beta(\lambda) = 1,63 \cdot DO_s(\lambda)^{-0,22}$$

Luego de realizar las mediciones de los coeficientes de absorción de las sustancias particuladas totales, se procedió a efectuar las mediciones de los coeficientes de absorción de la materia particulada orgánica no viva (detrito) e inorgánica. Los valores de absorción de estos componentes se realizaron según la metodología descrita por Kishino et al. (1985), basado en medidas de absorbancia realizadas después de la extracción de pigmentos en metanol absoluto.

En el presente Capítulo se utilizará el valor del coeficiente de absorción de detrito a 435 nm (ad_{435}) como una estimación de los STS de acuerdo con Babin et al. (2003) e Ylöstalo et al. (2014).

II.2.6 Estimación de la limitación por nutrientes

La composición estequiométrica de la química del agua de los lagos desempeña un papel importante en la limitación de nutrientes para el fitoplancton. Con el fin de evaluar los escenarios de limitación por fósforo (P) o nitrógeno (N), se estimó la proporción molar entre el nitrógeno inorgánico disuelto (NID) y el fósforo total (PT). Esta proporción brinda información sobre la disponibilidad relativa de estos nutrientes y permite determinar si el fitoplancton está limitado principalmente por P o N en los lagos estudiados (Bergström, 2010).

II.2.7 Análisis estadísticos

Las diferencias de los parámetros físicos y químicos entre lagos, entre fechas y entre profundidades fueron analizadas mediante la aplicación de ANOVA de medidas repetidas (RM ANOVA) utilizando el programa SPSS®. Se evaluó el supuesto de esfericidad de Mauchly, si los datos cumplían la condición de Huynh-Feldt ($p > 0,05$). Cuando no se cumplió la esfericidad, se utilizó la corrección de Greenhouse-Geisser de la esfericidad, para controlar la inflación de la tasa de error de tipo I. En función de evaluar estas diferencias estadísticas, se promediaron los datos de las diferentes profundidades delimitando tres estratos: **estrato superior** (muestras de 1, 10 y 20 m), **estrato medio** (muestras de 30 y 40 m), y **estrato inferior** (muestras de 50 m hacia el fondo), en base a la estratificación hallada en el verano en ambos lagos (ver sección II.3.3.1), y siguiendo a Jones et al. (1997) y Queimaliños et al. (2012). Se definió esta delimitación en lugar de epilimnion, metalimnion e hipolimnion debido a que la estructura térmica de la columna de agua fue muy variable y dinámica durante todo el período de muestreo (presencia/ausencia de estratificación térmica, profundidad variable del

epilimnion y del metalimnion), y en función de considerar el mismo número de muestras por estrato a lo largo del tiempo. Así, en algunas fechas el epilimnion coincidió con todo o parte del *estrato superior* y el metalimnion con todo o parte del *estrato medio*, o bien ambos coincidieron con parte de la columna de agua durante el período de mixis completa.

Por otra parte, se midió la sincronía entre variables independientes calculando el coeficiente de correlación de Pearson entre lagos (Pace & Cole, 2002). El índice de correlación de Pearson se calculó mediante el paquete "Correlation" (Lüdtke et al., 2019) y el paquete "Corr" respectivamente (Jackson, 2016) R (versión 3.4.2).

Para evaluar la variación natural de las características climáticas y limnológicas durante el período de estudio, se realizó Análisis de Componentes Principales (PCA) en R con el paquete "FactoMineR" y "factoextra", para detectar las principales variables ambientales en el conjunto de datos entre lagos y estaciones, y entre estratos y estaciones dentro de cada lago. Las variables se escalaron a la varianza unitaria para permitir la comparación entre factores. Se evaluó la colinealidad entre variables mediante un análisis de varianza de la inflación (VIF) y se incluyeron aquellas variables con un factor VIF menor a 10, quedando NDT y NO₂ excluido de los análisis.

II.3 Resultados

II.3.1 Condiciones meteorológicas durante el período de estudio: precipitaciones, temperatura del aire y radiación solar

Durante el período de estudio, el régimen de precipitaciones, la temperatura del aire y la radiación solar mostraron la marcada estacionalidad característica de la región del Norte de la Patagonia (Figura II.2A).

La precipitación anual acumulada (abril a marzo) fue de 1348 mm en 2017-2018 y 1137 mm en 2018-2019, cuando el 67% y el 76% ocurrieron durante las estaciones otoño-invierno

(Informes mensuales AIC 2017-2019, Estación Ba. López), respectivamente. Las precipitaciones mensuales siguieron el patrón estacional esperado, con algunos meses superando los 200 mm (Figura II.2A). En el año 2018, el mes más lluvioso fue junio con 209 mm, mientras que el menos lluvioso fue febrero con tan solo 15 mm. Por último, en el año 2019, el mes de abril registró 65 mm (Figura II.2A). A lo largo del período de estudio, se observó un patrón claro con períodos secos alternados en primavera-verano (octubre a marzo) y períodos húmedos en otoño-invierno (abril a septiembre). Los períodos secos se asociaron con temperaturas del aire y registros de PAR más altos; en cambio, los períodos húmedos se caracterizaron por temperaturas y valores de irradiancia más bajos (Figura II.2A).

La temperatura media mínima del aire fue de 3,35 °C y se registró en julio 2018, mientras que la temperatura media máxima se registró durante el mes de febrero 2019, siendo esta de 15,9 °C (Figura II.2A). En ambos lagos, se encontró una correlación muy alta de la temperatura superficial del agua con la del aire, y especialmente en el MO (Figura II.2B).

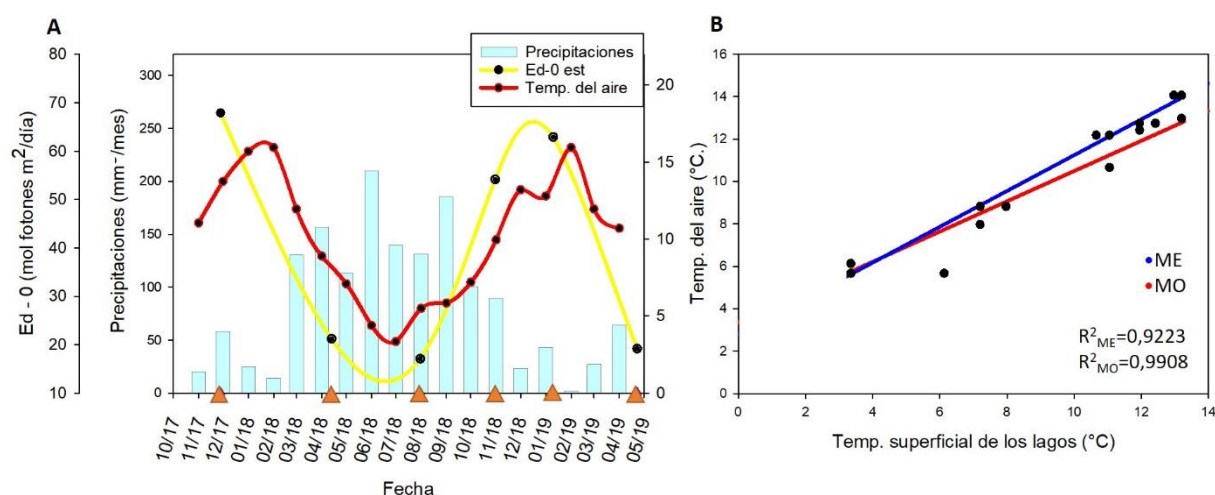


Figura II.2. A: Precipitaciones mensuales en las cuencas de los lagos Moreno (barras celestes), radiación solar incidente (línea amarilla), temperatura del aire (línea roja) durante el período de estudio (noviembre 2017 – abril 2019). Los triángulos naranjas en la base del gráfico indican las fechas de muestreo. B: Temperatura del aire vs. Temperatura superficial de los lagos, se muestran los R^2 para cada lago.

II.3.2 Características hidrogeomórficas de los lagos y fluctuaciones del nivel del agua

El desarrollo de volumen (DV), también llamado factor de forma fue de 1,90 en el lago ME (Tabla II.1) correspondiendo a una forma lacustre en “U”, con mayor pendiente litoral, mientras que en el lago MO este parámetro fue de 1,12 correspondiendo a una forma lacustre cóncava (en “V”) (Figura I. 2B en sección de Área de estudio). Cabe aclarar que cuanto más convexa es la forma del lago, menor es su DV.

La relación dinámica (RD) fue un 57,1% mayor en el MO que en el ME, siendo 0,07, y 0,04 respectivamente. Esto significa que en el MO hay un mayor predominio de la erosión y transporte de los sedimentos en suspensión debido a la acción del viento, mientras que en el ME, indica el predominio de procesos de pendiente o de sedimentación (Seitz et al., 2020; Tabla II.1).

El nivel del agua, como un parámetro relacionado con la conexión entre sistemas y con la cuenca, varió entre 769,54 y 770,65 m s.n.m., con una dinámica temporal que estuvo en línea con su comportamiento histórico (ver Figura I.3 en sección de Área de estudio). Los niveles de agua más altos fueron observados durante el otoño y el invierno reflejando los episodios de precipitaciones más fuertes, mientras que los altos niveles registrados durante la primavera están asociados con las entradas debidas al deshielo. Por el contrario, los niveles bajos de agua coincidieron con las temperaturas más cálidas y con las mayores pérdidas por evaporación que prevalecen en la estación seca de verano.

II.3.3 Variables físicas, químicas y Clorofila *a*

II.3.3.1 Temperatura del agua

Los perfiles de temperatura obtenidos durante las 6 fechas de muestreos se presentan comparando a ambos lagos en cada fecha (Figura II.3A), y en *contour plots* correspondientes a la dinámica de cada lago en el periodo de estudio por separado (Figura II.3B). En los *contour*

plots se analizan los registros obtenidos durante los 6 muestreos (líneas punteadas blancas) junto con registros de temperatura otras campañas realizadas durante el mismo período de estudio.

La temperatura del agua presentó un patrón similar en ambos lagos, con una dinámica sincrónica ($r= 0,97$, $p<0,05$).

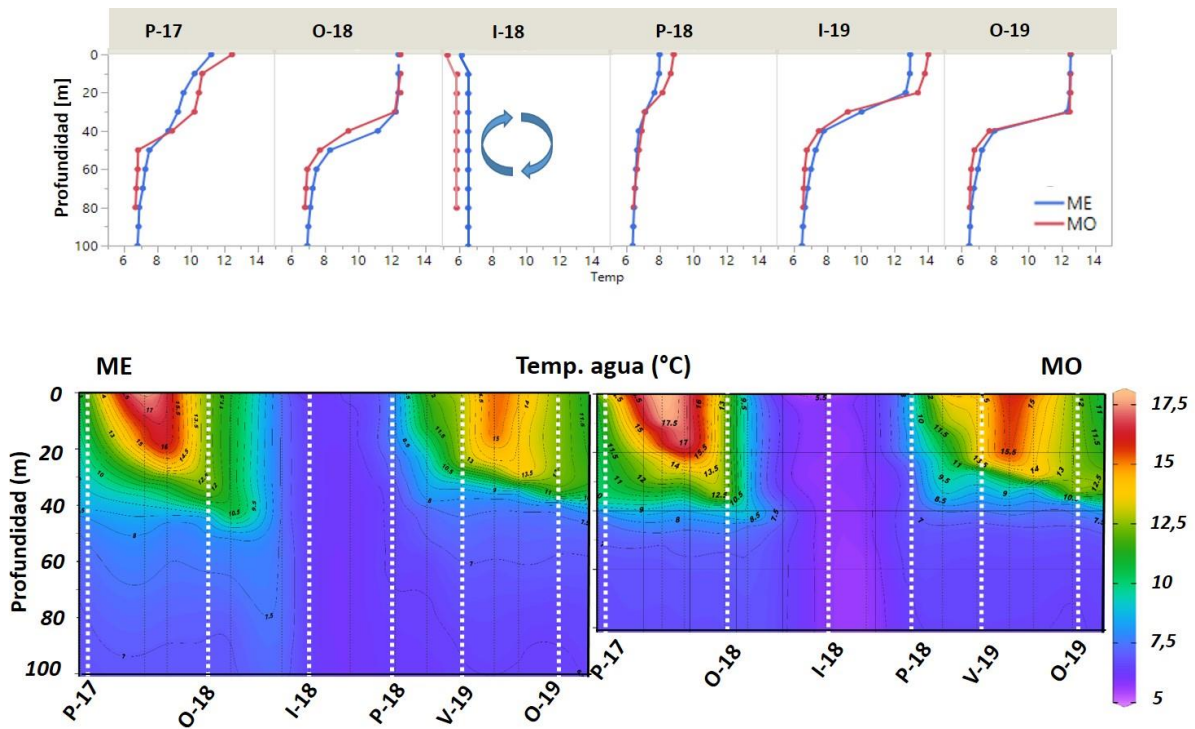


Figura II.3. A: perfiles verticales de temperatura comparando los lagos ME y MO en cada fecha de muestreo; B: *Contour plots* con la variación temporal y en profundidad de la temperatura del agua registrada durante los muestreos correspondientes a esta Tesis y a otros muestreos complementarios. La escala se encuentra en el margen derecho de los dos paneles. Panel izquierdo: lago Moreno Este, panel derecho: lago Moreno Oeste. Las fechas de muestreo se indican con líneas verticales punteadas en color blanco a partir del eje x.

En cada una de las fechas de muestreo, la temperatura del agua fue similar entre los lagos (RM ANOVA $p>0,05$), aunque durante la primavera y verano del 2018 se puede evidenciar un desfase en los perfiles térmicos entre el MO y el ME, estando este último retrasado en el establecimiento de la estratificación. Sin embargo, los perfiles fueron diferentes entre estaciones, siguiendo el régimen térmico monomíctico cálido. Dado que estos sistemas son sumamente dinámicos, especialmente en el estrato superior y medio, el desarrollo del estrato

superior ocurrió desde la superficie hasta aproximadamente 20 m de profundidad, en tanto que el estrato medio se desarrolló aproximadamente entre los 30 y 40 m. En contraste, el estrato inferior (hipolimnético) fue más estable y menos dinámico en cuanto al perfil térmico, y se desarrolló desde los 50 m de profundidad hasta el fondo con una temperatura media de 7 °C para el lago ME y 6,78 °C para lago MO. Tanto en la primavera tardía de 2017 (noviembre) como en la primavera temprana de 2018 (octubre) ambos lagos mostraron una incipiente estratificación. En 2017, esta estratificación incipiente fue más marcada en aguas superficiales (hasta 20 m aproximadamente) que alcanzaron los de 11,2 °C en ME y 12,5 °C en MO. Para estas mismas fechas se observó un estrato inferior bien establecido con temperaturas promedio de 6,7 °C en 2017 y 6,4 °C en 2018. Sin embargo, dado lo incipiente de la estratificación no se pudo definir un estrato superior y un estrato medio. Por otro lado, se registró una estratificación térmica bien definida durante el inicio de los dos otoños (abril de 2018 y de 2019), así como durante el verano de 2019 (enero). Durante esta etapa, las temperaturas del estrato superior variaron entre 12,4 y 14,0 °C, con una profundidad de la capa de mezcla superficial que osciló entre los 20 y los 35 m de profundidad. Durante la mezcla de invierno 2018 (julio), la temperatura fue homogénea en toda la columna de agua registrando una media de $6,5 \pm 0,1$ °C para ME y $5,8 \pm 0,2$ °C para MO.

II.3.3.2 Estabilidad térmica de la columna de agua

El estudio reveló que el rango de estabilidad térmica de Schmidt (SSI) osciló entre 174,5 y 15861,1 J m⁻² y entre 62,4 a 6322,0 J m⁻² en los lagos ME y MO, respectivamente (Tabla II.1; Figura II.4A), registrando sus menores valores durante la mixis, y los mayores durante la estratificación en ambos lagos. Se puede observar claramente que el lago MO requiere mucha menos energía para lograr una mezcla completa en comparación con el lago ME, ya que se necesita 2,57 veces más energía para lograr una mezcla completa en el ME (Figura II.4B). Además, se encontró una sincronía alta y significativa entre ambos lagos ($r=0,96$, $p<0,0001$).

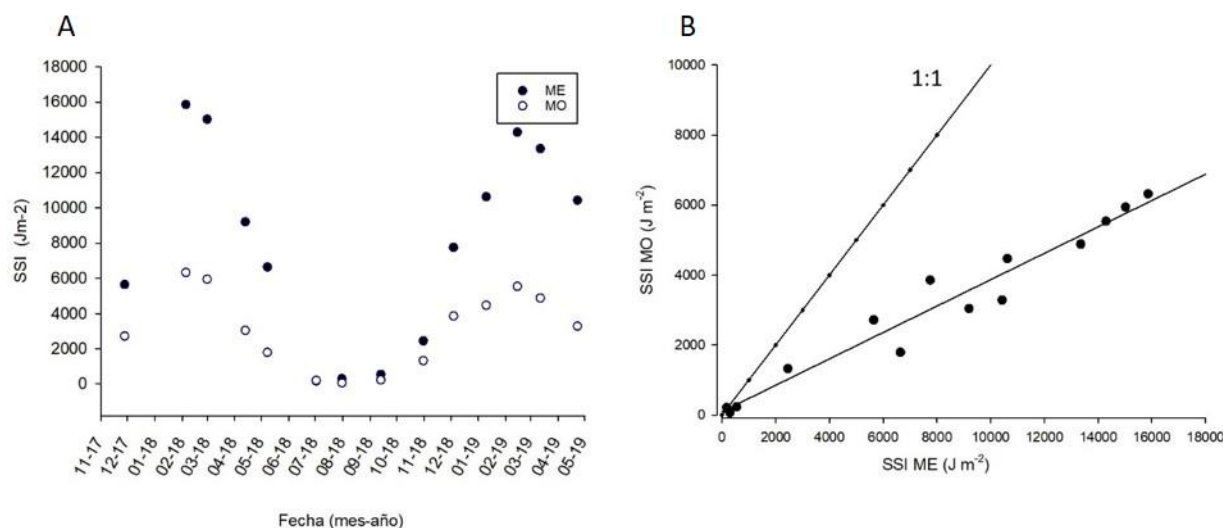


Figura II.4. A Análisis comparativo de la estabilidad térmica de Schmidt (SSI) entre los lagos ME y MO a lo largo del período de estudio. B- En el gráfico derecho se presenta la relación del SSI entre ambos lagos.

Tabla II.1 Valores promedio, desvío estándar (D.E.) y rango (mínimos y máximos) de diversas variables físicas y químicas, y de la concentración de Clorofila *a* de los dos lagos durante todo el período de muestreo. *Referencias:* SSI: estabilidad térmica de Schmidt, [OD]: concentración de oxígeno disuelto, K_{dPAR} : coeficiente de atenuación de la radiación fotosintéticamente activa, I_z : intensidad de luz a diferentes profundidades, ad_{435} : absorbancia a 435 nm como indicador de los sólidos totales en suspensión.

*Valores que corresponden a los 3 primeros muestreos, luego los sensores correspondientes se averiaron y su reparación no fue posible

Variable	Unidad	Moreno Este				Moreno Oeste			
		Media	D.E.	Mín	Máx	Media	D.E.	Mín	Máx
SSI	J m ⁻²	8020,2	3119,8	174,5	15861,1	3119,8	2164,9	62,4	6322,0
Conductividad*	μS cm ⁻¹	39,18	0,40	39,00	40,00	41,78	0,67	41,00	43,00
pH*		6,83	0,23	6,39	7,06	6,97	0,19	6,60	7,35
[OD]	mg L ⁻¹	8,97	0,87	5,01	10,16	9,26	0,68	7,50	10,43
OD (%sat)	%	85,44	7,06	59,37	96,84	87,39	5,77	69,47	98,40
K_{dPAR}	m ⁻¹	0,154	0,031	0,107	0,171	0,144	0,030	0,108	0,193
Zmix:Zeu		1,207	1,241	0,403	3,697	1,208	0,961	0,544	3,125
ad_{435}	m ⁻¹	0,050	0,009	0,036	0,081	0,036	0,010	0,013	0,055
Clorofila <i>a</i>	μg L ⁻¹	0,81	0,28	0,32	1,84	0,88	0,32	0,40	1,64

II.3.3.3 Conductividad y pH

La conductividad media ($\pm$ DE) fue de $39,18 \pm 0,40 \mu\text{S cm}^{-1}$ en el ME, y de $41,78 \pm 0,67$ (Tabla II.1). El pH fue de $6,83 \pm 0,23$ para el ME y $6,97 \pm 0,19$. Debido a que los sensores de conductividad y de pH de la sonda se averiaron y no se pudieron reparar, estos parámetros sólo fueron registrados en los primeros tres muestreos.

II.3.3.4 Oxígeno disuelto

Durante el período de estudio, la concentración media del oxígeno disuelto (OD) fue de $8,97 \pm 0,87 \text{ mg L}^{-1}$ para el lago ME y $9,26 \pm 0,68 \text{ mg L}^{-1}$ para el MO (Tabla II.1, Figura II.5), mientras que los porcentajes de saturación variaron entre 59,37 y 98,40% en ambos lagos (Tabla II.1). La variación temporal de la concentración de OD fue sincrónica entre ambos lagos ($r=0,914$, $p<0,0001$). No se encontraron diferencias significativas en esta variable entre los lagos, excepto en el invierno y en la primavera de 2018, cuando MO presentó una concentración mayor que en ME (RM ANOVA $p<0,05$) (Figura II.5). En general, todas las fechas de muestreo fueron diferentes entre sí (RM ANOVA $p<0,05$), y ambos lagos mostraron un aumento en la oxigenación con porcentajes de saturación mayores al 85%, especialmente durante el invierno de 2018 y en ambas primaveras de 2017 y de 2018. Durante la primavera de 2018 y el verano de 2019, el lago MO mostró diferencias entre los estratos medio y superior y el estrato inferior (RM ANOVA $p<0,05$), evidenciando una menor oxigenación progresivamente hacia el fondo que implicó un 69% de saturación. En contraste, el lago ME presentó cambios significativos (RM ANOVA $p<0,05$) en todas las fechas, pero no entre estratos, posiblemente debido a la gran variabilidad temporal encontrada en el OD del estrato inferior (Figura II.5). Sin embargo, en los muestreos de otoño de 2018 y 2019 se observó un gradiente claro hacia la profundidad máxima, donde las concentraciones de OD fueron más bajas, alcanzando el 59% de saturación en ME, el valor mínimo durante el período de estudio (Tabla II.1).

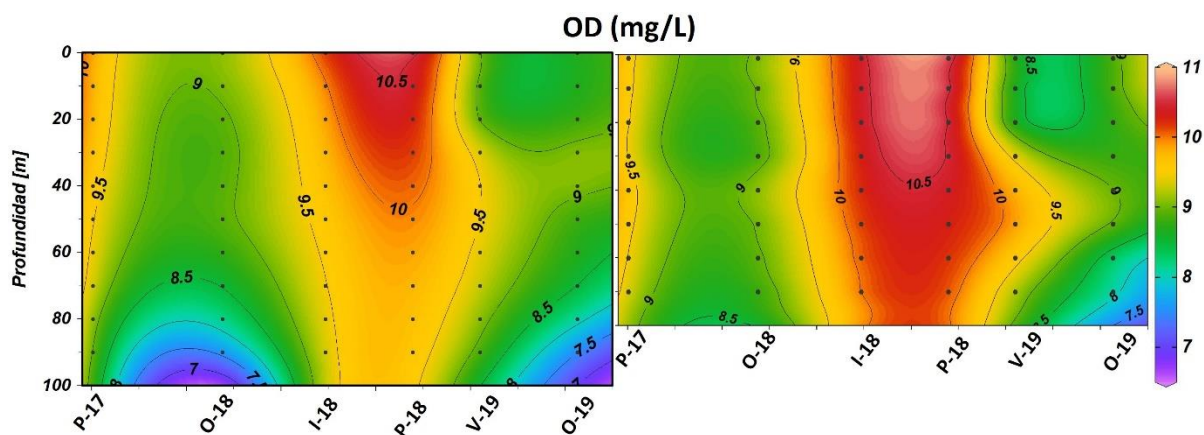


Figura II.5. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) del oxígeno disuelto (OD) en ambos lagos La escala de la variable se encuentra a la derecha de los dos paneles.

II.3.3.5 Clima óptico de los lagos

Los coeficientes de atenuación de la radiación fotosintéticamente activa (K_{dPAR}) de los lagos presentaron diferencias en el tiempo, pero no se registraron diferencias entre lagos para las mismas fechas. Los menores valores de K_{dPAR} se registraron durante la primavera 2018 con $0,107 \text{ m}^{-1}$ y los mayores durante el invierno con $0,194 \text{ m}^{-1}$ (Tabla II.1). Dada la alta transparencia observada en los lagos, las zonas eufóticas resultaron ser muy extensas, sin embargo, la fluctuación estacional del K_{dPAR} hizo que la penetración de la luz al Z1% fuese menor durante el invierno, alcanzando una profundidad de mínima de 28,4 m, y máxima en primavera de 38,7 m (Figura II.4). Las Z1% de las restantes fechas se muestran en la Figura II.6 donde se puede observar un patrón similar en ambos lagos: una disminución de la transparencia desde la primavera 2017 hacia el invierno, y desde la primavera 2018 hacia el otoño 2019, con un marcado aumento del Z1% entre el invierno y la siguiente primavera 2018 (Figura II.6).

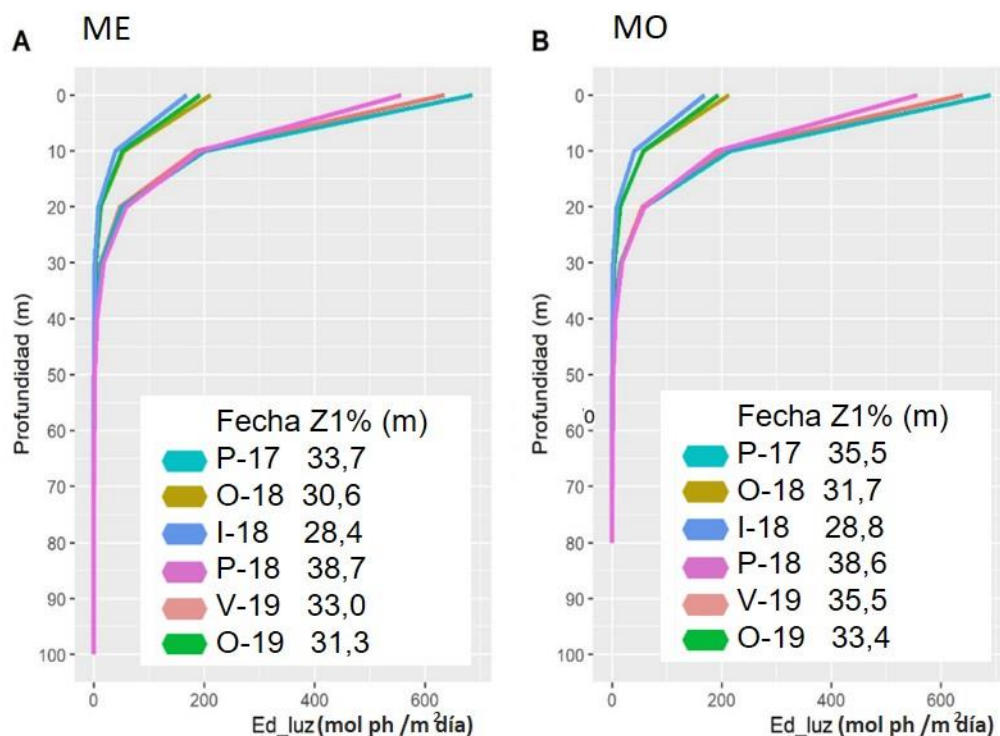


Figura II.6. Perfiles de la atenuación de la luz en la columna de agua durante las fechas muestreadas, y las profundidades de 1% de la luz incidente (Z1%) correspondientes a: A. lago Moreno Este; B. lago Moreno Oeste.

Al analizar los cocientes $Z_{mix}:Z_{eu}$ se observó que variaron entre 0,403 y 3,697 en el ME, y entre 0,544 y 3,125 en el MO (Tabla II.1). Los menores valores de 0,403 y de 0,544 se registraron durante la primavera temprana en ME y MO, respectivamente. Cabe destacar que el único momento del período estudiado en que el cociente fue mayor a 1, más específicamente mayor a 3, se observó durante la mixis invernal en ambos lagos, indicando que, en las fechas restantes, la zona de mezcla siempre estuvo bien iluminada.

II.3.3.6 ad_{435} como indicador de los sólidos totales en suspensión

El coeficiente de absorción promedio ad_{435} en el lago ME fue de $0,050 \pm 0,009 \text{ m}^{-1}$, mientras que para el MO fue de $0,036 \pm 0,010 \text{ m}^{-1}$ (Tabla II.1, Figura II.7). Esta diferencia entre los lagos fue significativa, siendo siempre mayor en ME comparado con MO (RM ANOVA $p < 0,05$). El tiempo fue significativo en las absorbancias registradas en el ME (RM ANOVA $p < 0,05$),

registrándose mayores valores en invierno 2018 y otoño 2019. Por otro lado, la interacción tiempo*estrato fue significativa en el lago MO (RM ANOVA $p<0,05$), donde el estrato inferior se diferenció de los estratos superiores durante otoño, invierno y primavera 2018 (RM ANOVA $p<0,05$). La variación temporal de este parámetro no fue sincrónica entre ambos lagos ($r=0,159$, $p=0,54$).

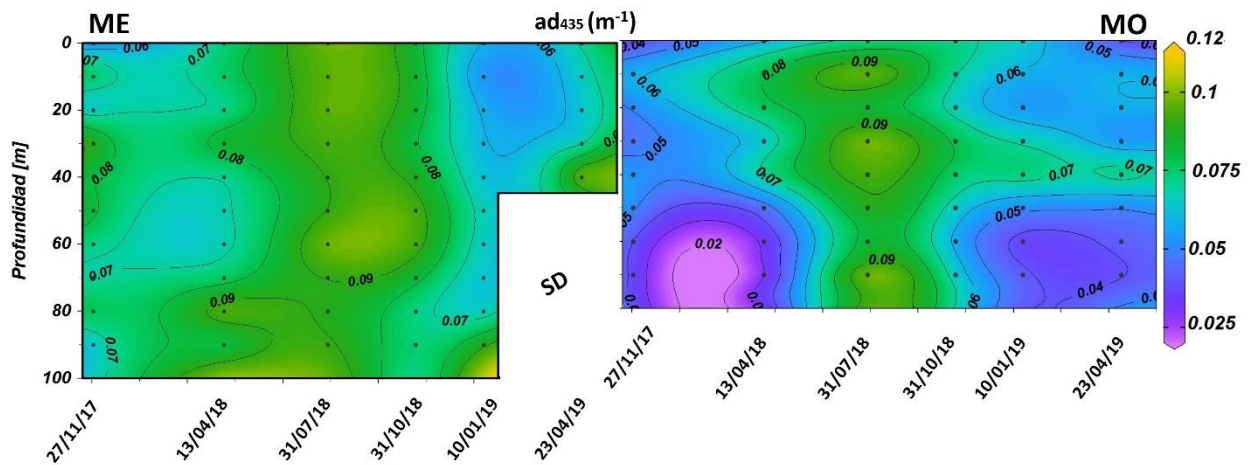


Figura II.7. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) del ad_{435} en ambos lagos. La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro. La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles. SD: sin datos.

II.3.3.7 Clorofila *a*

La concentración de clorofila *a* (Cla) media en el lago ME fue de $0,84 \pm 0,28 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en el lago MO fue de $0,88 \pm 0,32 \mu\text{g L}^{-1}$, y se encontró una correlación significativa entre ambos lagos ($r=0,56$, $p=0,017$). Hubo diferencias significativas en las concentraciones totales de Cla (RM ANOVA $p<0,05$) entre los lagos durante el invierno de 2018 y el verano de 2019, siendo el lago MO el que siempre presentó concentraciones más altas. En cuanto a la distribución vertical, se observó la presencia de dos máximos profundos de Cla (DCM, de su sigla en inglés), durante los períodos de estratificación (Figura II.8). Ambos lagos

experimentaron aumentos significativos durante el invierno a lo largo de toda la columna de agua (RM ANOVA $p < 0,05$) (Figura II.8).

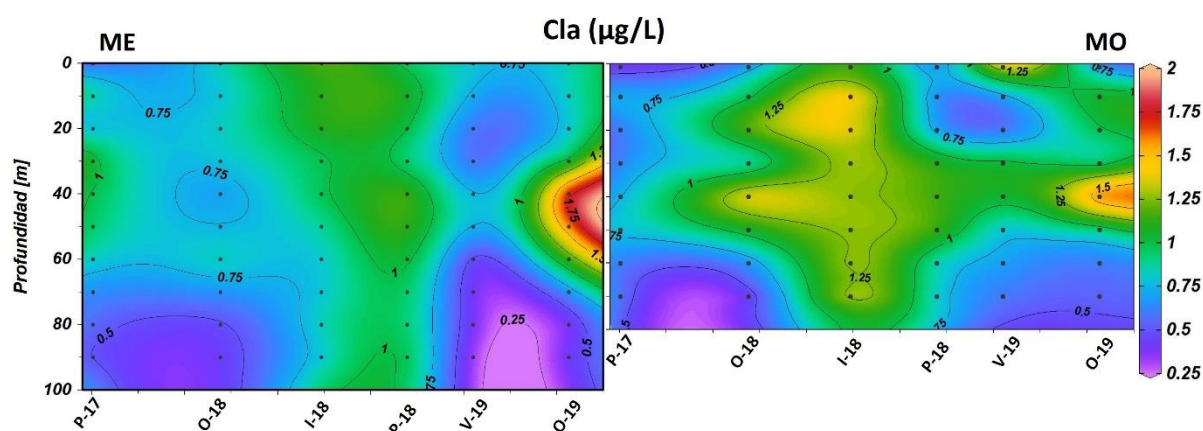


Figura II.8. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de la clorofila a (Cla). La escala de la variable indicada en cada título se encuentra a la derecha de los gráficos.

II.3.3.8 Concentración de carbono disuelto orgánico e inorgánico

Las concentraciones de COD fueron muy bajas, y variaron entre 0,22 y 0,88 mg L⁻¹ en el lago ME, y entre 0,34 y 0,86 mg L⁻¹ en el lago MO durante todo el período estudiado (Tabla II.2, Figura II. 9A). Los lagos se diferenciaron entre sí, siendo las concentraciones mayores en el MO (RM ANOVA $p < 0,05$), sin embargo, las variaciones fueron sincrónicas entre ellos ($r = 0,561$, $p = 0,015$). El lago ME presentó mayores valores en el estrato superior respecto al estrato inferior durante el verano y otoño 2019 (RM ANOVA $p < 0,05$), mientras que el patrón en el MO mostró que los valores registrados en el estrato inferior fueron siempre significativamente menores que los registrados en los estratos superiores (RM ANOVA $p < 0,05$).

Las concentraciones promedio de CID medias para el lago ME fueron de $4,33 \pm 0,12$ mg L⁻¹ y de $4,50 \pm 0,16$ mg L⁻¹ para el MO (Tabla II.2, Figura II.9B) La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) y los lagos fueron diferentes durante la primavera 2017, invierno 2018 y verano y otoño 2019, siendo siempre mayor la concentración del lago MO. A

pesar de las diferencias en concentración entre lagos se encontró una correlación significativa entre ambos lagos ($r=0,558$, $p=0,016$). En cuanto a la variación dentro de cada lago, el lago ME tuvo una interacción significativa entre tiempo y estratos (RM ANOVA $p<0,05$) donde los estratos variaron sus concentraciones, siendo todos iguales sólo durante el invierno (Tukey $p<0,05$). El lago MO en cambio no registró diferencias entre estratos, sólo en el tiempo (RM ANOVA $p<0,05$) siendo las máximas concentraciones durante otoño 2019.

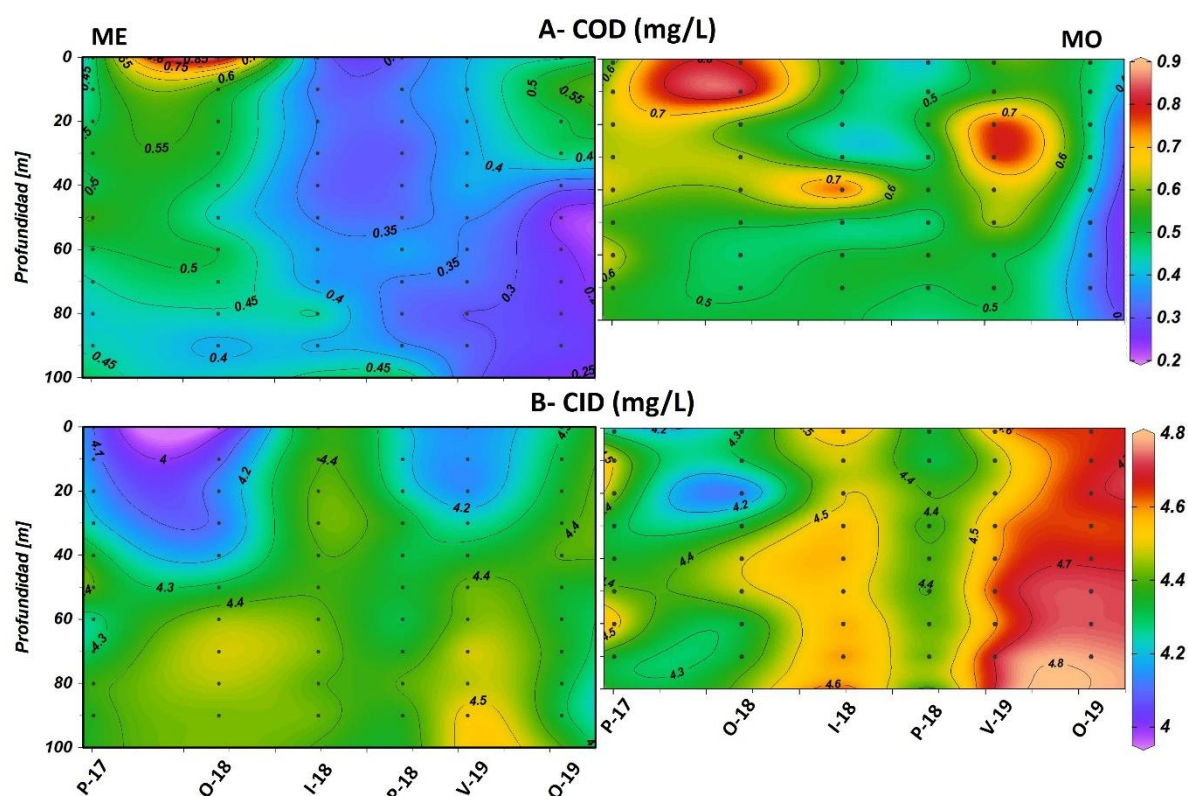


Figura II.9. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) del: A- Carbono Orgánico disuelto (COD); B- Carbono inorgánico disuelto (CID). La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles.

Tabla II.2. Valores promedio, desvío estándar (DE) y rango (mínimos y máximos) de las variables carbono orgánico disuelto (COD), carbono inorgánico disuelto (CID), absorción a

440 nm (a_{440}), absorción a 350 nm normalizada por COD (a^*_{350}), pendiente espectral 275-295 nm ($S_{275-295}$), absorción a 254 nm normalizada por COD (SUVA).

Variable	Unidad	Moreno Este				Moreno Oeste			
		Media	D.E.	Mín	Máx	Media	D.E.	Mín	Máx
COD	mg L ⁻¹	0,40	0,10	0,22	0,88	0,54	0,11	0,34	0,86
CID	mg L ⁻¹	4,33	0,12	3,95	4,54	4,50	0,16	4,10	4,80
Caracterización de la MODC									
a_{440}	m ⁻¹	0,06	0,03	0,003	0,12	0,06	0,02	0,01	0,10
a^*_{350}	(L mg C ⁻¹ m ⁻¹)	0,60	0,19	0,26	1,09	0,52	0,14	0,3	0,85
$S_{275-295}$	nm ⁻¹	0,020	0,003	0,020	0,030	0,030	0,003	0,020	0,030
SUVA	(L mg C ⁻¹ m ⁻¹)	3,26	0,90	1,46	6,27	3,05	0,59	1,92	5,09

II.3.3.9 MODC

a_{440}

Los valores de a_{440} fueron similares para ambos lagos, con una media de $0,06 \pm 0,03$ m⁻¹ para el ME y de $0,06 \pm 0,02$ m⁻¹ para el MO (Tabla II.2). La dinámica temporal del a_{440} evidenció la sincronía entre ambos lagos ($r = 0,79$; $p = 0,0001$), y no se registraron diferencias entre lagos (RM ANOVA $p > 0,05$), ni tampoco entre estratos. Sin embargo, se observaron variaciones en el tiempo (RM ANOVA $p < 0,05$), registrándose un mínimo muy importante para ambos lagos en la primavera de 2018 (Figura II.10A).

a^*_{350}

La absorbancia a 350 nm (a_{350}) está directamente relacionada con el contenido de lignina en la MOD (Spencer et al., 2009) y los valores de a^*_{350} (a_{350} :COD) pueden ser indicativos de ambientes altamente influenciados por MOD de origen terrestre con una elevada influencia de la cuenca o también puede significar un bajo tiempo de residencia. Los valores de a^*_{350} presentaron una variación sincrónica entre ambos lagos ($r = 0,64$; $p = 0,0044$). El lago ME registró valores significativamente mayores que el lago MO, con una media de $0,60 \pm 0,19$ L

$\text{mg C}^{-1} \text{ m}^{-1}$, mientras que la media en el MO fue de $0,52 \pm 0,14 \text{ L mg C}^{-1} \text{ m}^{-1}$ (Tabla II.2). En la primavera 2018 se observó una disminución significativa del a^*_{350} en ambos lagos, mientras que en el verano y en el otoño 2019 los valores aumentaron significativamente en el estrato inferior (Figura II.10B).

S₂₇₅₋₂₉₅

La pendiente espectral $S_{275-295}$ (parámetro relacionado con el efecto de procesos de fotodegradación de la MODC e inversamente relacionado con el tamaño molecular) fue muy similar entre lagos (Figura II.10C), y no se registraron diferencias significativas entre ambos (RM ANOVA $p < 0.05$). El promedio en ME fue de $0,020 \pm 0,003 \text{ nm}^{-1}$, y de $0,030 \pm 0,003 \text{ nm}^{-1}$ en MO (Tabla II.2). Se registró un máximo durante la primavera de 2018. Por otra parte, la variación espectral fue sincrónica ($r = 0,87$, $p < 0,0001$). En el caso del ME se observaron diferencias entre el estrato superior y el inferior (RM ANOVA $p < 0,05$), siendo mayores los valores de la pendiente en la superficie. En tanto que el lago MO no registró diferencias entre estratos (Figura II.10C).

SUVA

Se midió el SUVA ($a_{254}:\text{COD}$) como medida de la aromaticidad de la MOD (Figura II.10D). Los lagos se diferenciaron durante el invierno y el verano 2019 (RM ANOVA $p < 0,05$). Los valores medios fueron de $3,26 \pm 0,90 \text{ L mg C}^{-1} \text{ m}^{-1}$ en el ME, mientras que la media en el MO fue de $3,05 \pm 0,59 \text{ L mg C}^{-1} \text{ m}^{-1}$ (Tabla II.2). Los estratos superiores fueron diferentes entre los lagos (RM ANOVA $p < 0,05$) siendo mayor el cociente en el ME. Dentro del lago ME, el cociente fue significativamente mayor en el estrato inferior respecto del estrato superior, mientras que, en el MO, los valores fueron mayores en el estrato inferior respecto a ambos estratos superiores (Figura II.10D). La variación temporal de este parámetro fue sincrónica entre ambos lagos ($r = 0,56$, $p = 0,015$).

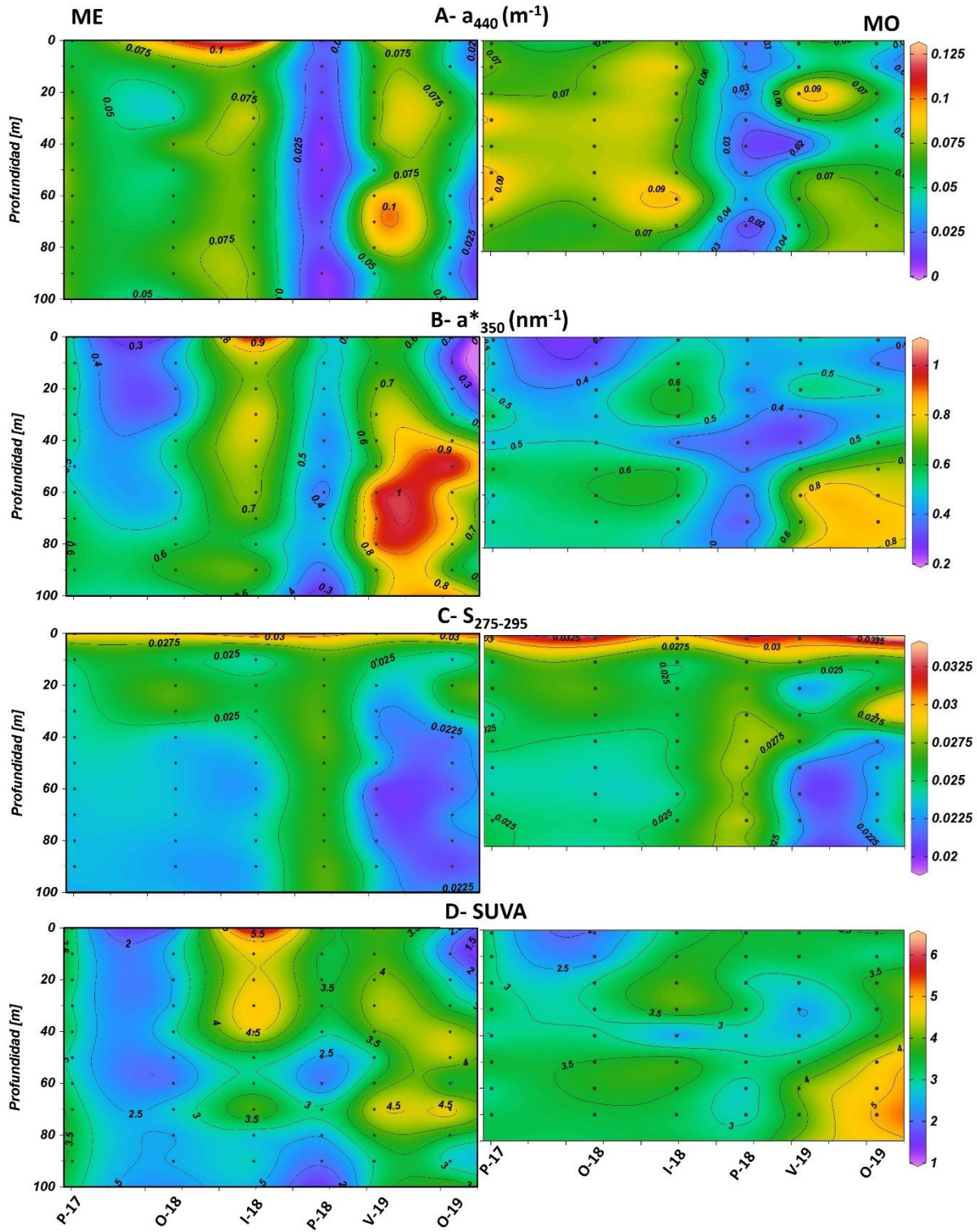
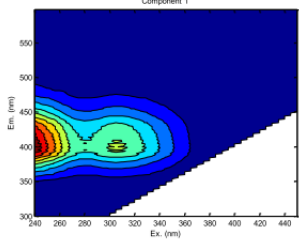
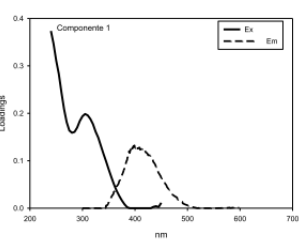
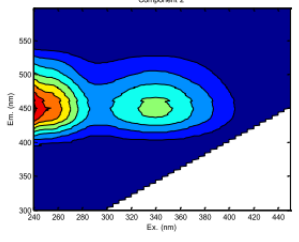
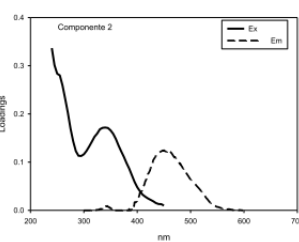
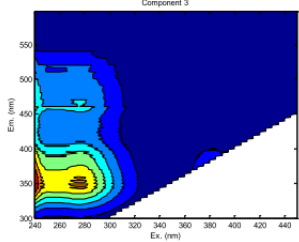
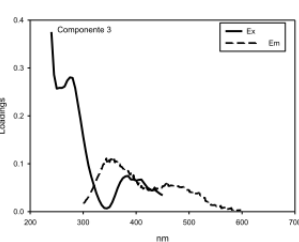


Figura II.10. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de las variables: A- a_{440} ; B- a^*_{350} ; C- $S_{275-295}$; D- SUVA. Las escalas de las variables se encuentran a la derecha de los paneles para cada parámetro.

II.3.3.10 MODF

En relación con la MOD fluorescente, el análisis PARAFAC de las matrices de excitación-emisión identificó tres componentes (C1, C2 y C3). Los componentes C1 y C2 han sido previamente reconocidos como compuestos húmicos, siendo una combinación de los fluoróforos A+M y A+C, respectivamente. El fluoróforo C1 (pico M) está usualmente relacionado con la actividad microbiana realizada sobre MOD terrestre, mientras que C2 (pico C), está relacionado con compuestos provenientes de los suelos circundantes. Por su parte, C3 (pico T) se asocia con compuestos no húmicos y alifáticos, producto de la actividad algal, o bien de procesos de fotooxidación de la MOD (p.e. Stubbins et al., 2014; Kellerman et al., 2015) (Tabla II.3).

Tabla II.3. Componentes identificados durante el análisis PARAFAC sobre los lagos Moreno Este y Oeste, matriz representativa y características espectrales de excitación y emisión para cada componente hallado.

	Em/Ex	EEM	Características espectrales
C1	Ex 240 (305) Em 399		
C2	Ex 340 (240) Em 450		
C3	Ex 275 Em 349		

Contribución relativa de los componentes

El análisis de la contribución relativa de los componentes dio como resultado un elevado porcentaje del C1 tanto en el lago ME como en el MO ($49,7 \pm 6,3$ %, $n=66$ y $45,8 \pm 5,7$ % $n=54$, respectivamente). Los componentes C2 y C3 tuvieron porcentajes similares en ambos lagos ($C2=24,8 \pm 3,2$ % ME y $23,4 \pm 4,1$ % MO; $C3= 25,5 \pm 9$ % y $30,9 \pm 9,2$ %). La dinámica temporal de los tres componentes en porcentaje evidenció la existencia de sincronía solo para el C1 ($r=0,654$, $p= 0,04$).

El cociente C1:COD fue mayor en el ME (rango 0,02-0,21) respecto al MO (rango 0,03-0,13) (Tabla II.4), siendo en el ME los estratos distintos entre sí, en tanto que en el MO sólo fueron diferentes respecto al estrato inferior (Figura II.11A). Sin embargo, el patrón de variación fue sincrónico entre lagos ($r=0,845$, $p<0,0001$).

Tabla II.4. Valores promedio, desvío estándar (DE) y rango (mínimos y máximos) de los componentes 1, 2 y 3 (C1, C2 y C3), componentes normalizados por COD (Cn:COD), índice biológico (BIX), índice de humificación (HIX), que caracterizan a la MOD fluorescente.

Variable	Unidad	Moreno Este				Moreno Oeste			
		Media	D.E.	Mín	Máx	Media	D.E.	Mín	Máx
C1 (Peak M)	R.U.	0,04	0,01	0,02	0,05	0,04	0,01	0,03	0,05
C2 (Peak C)	R.U.	0,02	0,004	0,01	0,03	0,02	0,004	0,01	0,03
C3 (Peak T)	R.U.	0,02	0,01	0,004	0,06	0,03	0,01	0,01	0,07
C1:COD		0,10	0,04	0,02	0,21	0,07	0,02	0,03	0,13
C2:COD		0,05	0,02	0,02	0,11	0,04	0,01	0,02	0,07
C3:COD		0,05	0,02	0,01	0,16	0,05	0,02	0,02	0,15
BIX		0,75	0,07	0,66	1,00	0,74	0,05	0,65	0,91
HIX		0,83	0,05	0,65	0,92	0,80	0,06	0,63	0,89

El lago ME tuvo mayores concentraciones del componente C2 y mayor variación en el tiempo del cociente C2:COD que el MO (RM ANOVA $p < 0,05$) (Tabla II.4). Además, en ambos lagos, los valores del estrato inferior fueron significativamente mayores que aquellos de los estratos superiores durante los otoños 2017 y 2018 y el verano 2019 (Figura II.11B). Sin embargo, el patrón de variación fue sincrónico entre lagos ($r = 0,778$, $p = 0,0001$).

El cociente C3:COD tuvo un rango de 0,01-0,16 para el ME y de 0,02-0,15 para el MO (Tabla II.4). El estrato superior fue diferente entre lagos (RM ANOVA $p = 0,015$). Los valores registrados en ME no presentaron grandes fluctuaciones en el tiempo y solo el estrato inferior presentó una leve variación, en tanto que en el estrato superior del lago MO se registró mayor variación en el tiempo, y durante la primavera 2018 aumentó en toda la columna (Figura II.11C). Esta variable no registró una variación sincrónica ($r = 0,077$, $p = 0,769$).

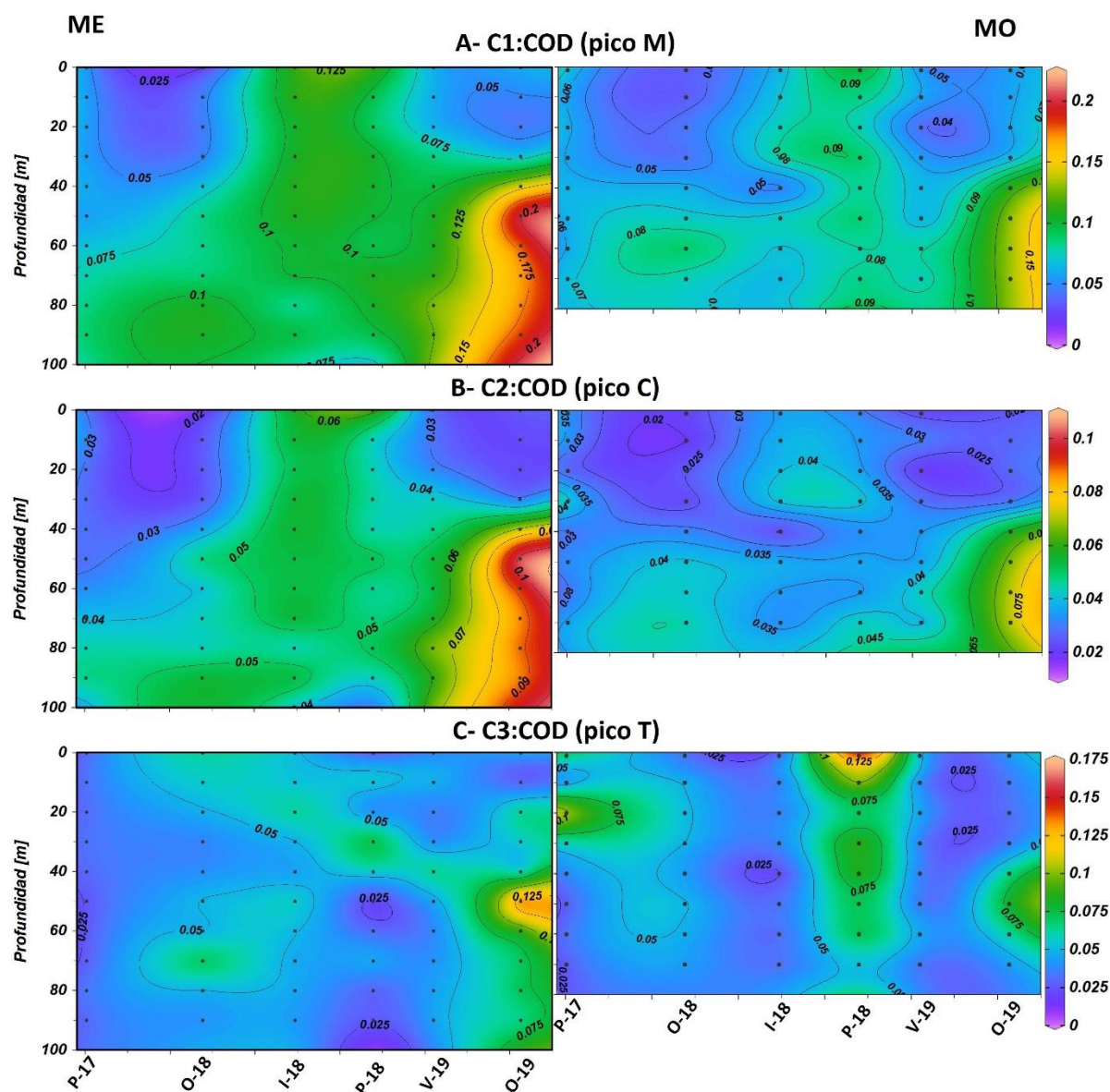


Figura II.11. Variación temporal y en profundidad de los cocientes C1:COD, C2:COD y C3:COD en ambos lagos. ME (paneles izquierdos), MO (paneles derechos). Las escalas de las variables indicadas en cada título se encuentran a la derecha de los paneles.

La contribución microbiana en la MOD reflejada en el BIX no fue sincrónica entre lagos ($r=0,144$, $p=0,57$) y varió en un promedio de $0,75\pm0,07$ en el ME y de $0,74\pm0,05$ para el MO (Tabla II.4). La interacción fecha*lago fue significativa (RM ANOVA $p<0,05$), diferenciándose ambos lagos durante la primavera 2017 donde el BIX fue mayor en el MO, mientras que durante el verano 2019 y otoño 2019 el BIX fue mayor para el ME (Figura II.12A). El lago ME evidenció cambios de este índice en el tiempo y entre estratos (RM

ANOVA $p=0,03$), registrando valores altos durante los otoños 2018 y 2019, y un máximo en el verano 2019. Respecto a los estratos, en particular el estrato inferior fue significativamente menor (RM ANOVA $p=0,018$) que los estratos medio y superior. En el lago MO sólo se observaron diferencias en tiempo (RM ANOVA $p=0,029$) siendo el invierno, primavera 2018 y verano 2019 cuando los índices fueron más bajos (Figura II.12A).

Respecto al índice de humificación o HIX se observó sincronía entre los lagos ($r=0,57$, $p=0,01$), los valores promedios en el ME fueron de $0,83\pm0,05$ y de $0,80\pm0,06$ para el MO (Tabla II.4), dando como resultado un relativamente alto contenido de material húmico en ambos lagos (Figura II.12B). Los valores obtenidos en ambos lagos se diferenciaron durante la primavera 2017 y el otoño 2018, siendo mayor el índice de humificación en el ME (RM ANOVA $p<0,05$). El lago ME tuvo diferencias dentro de la columna de agua siendo significativamente mayor el HIX en el estrato inferior durante el otoño 2018 y el verano 2019 (RM ANOVA $p<0,05$). El estrato superior del lago MO fue significativamente menor que los estratos medio e inferior (RM ANOVA $p<0,05$). En ambos lagos durante el verano 2019 el índice fue máximo (Figura II.12B).

El BIX y el HIX se correlacionaron negativamente en ambos lagos (ME: $r=-0,63$, $p<0,001$; MO: $r=-0,63$, $p<0,001$), indicando el origen autóctono de la MOD. En particular, los mayores valores de HIX caracterizaron al estrato inferior, mientras que el estrato superior se caracterizó por mayores valores de BIX (Figura II.12C).

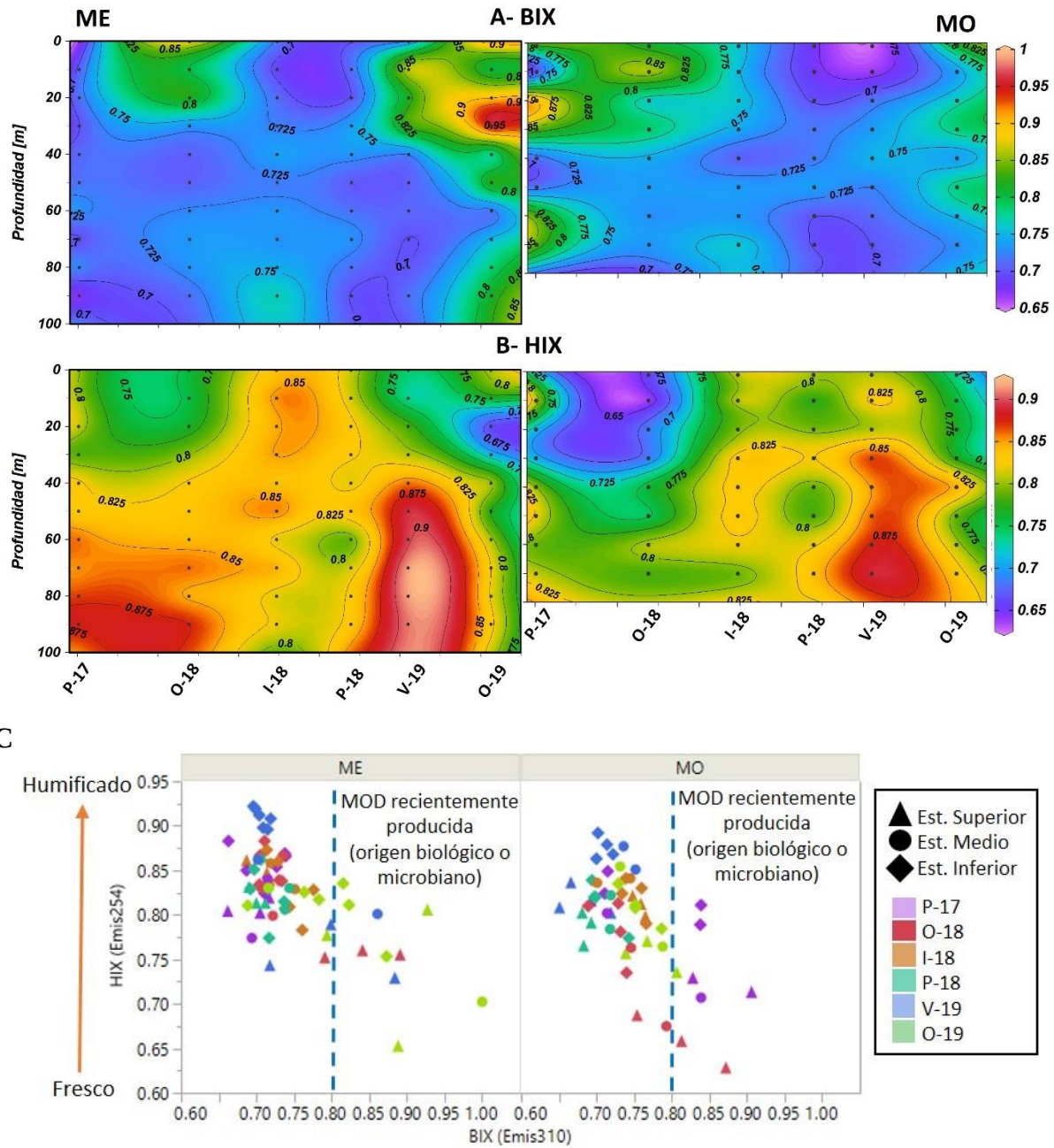


Figura II.12. *Contour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) A: índice biológico (BIX); B: índice de humificación (HIX). La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro; C: Relación entre el índice de humificación (HIX) y el índice de MOD recientemente producida por la microbiota (BIX) en los lagos ME y MO. Las líneas discontinuas indican los valores reportados por Birdwell & Engel (2010) y Walker et al. (2013).

II.3.3.11 Análisis de los nutrientes

Fósforo (P)

Las concentraciones de fósforo total (PT) fueron bajas y variaron entre 0,60 y 3,12 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5). No se encontraron diferencias significativas entre los lagos (RM ANOVA $p=0,098$), si bien se observaron diferencias a lo largo del tiempo (RM ANOVA $p<0,05$). La variación temporal del PT fue sincrónica entre ambos lagos ($r=0,603$, $p=0,008$). En particular, durante el invierno y la primavera de 2018, se registraron las concentraciones medias más bajas en ambos lagos, siendo significativamente inferiores respecto a las otras fechas, pero no entre ambos lagos para la misma fecha (RM ANOVA $p>0,05$, Tabla II.5, Figura II.13A).

Las fracciones disueltas del fósforo (fósforo disuelto total, PDT) presentaron una concentración promedio de $0,53\pm0,33 \mu\text{g L}^{-1}$ para el ME, mientras que en el lago MO fue de $0,63\pm0,31 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5). Se encontraron diferencias significativas (RM ANOVA $p<0,05$) entre ambos lagos en todas las fechas de muestreo, excepto en la primavera de 2018 y el verano de 2019 (Figura II.13B). Sin embargo, la variación temporal de este parámetro fue sincrónica entre ambos lagos ($r=0,69$, $p=0,001$).

Las concentraciones de fósforo reactivo soluble (PRS) fueron bajas en ambos lagos, con valores que variaron entre no detectables y 1,26 $\mu\text{g L}^{-1}$. La concentración promedio fue de $0,27\pm0,25 \mu\text{g L}^{-1}$ para el lago ME, y para el lago MO de $0,35\pm0,31 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5). Durante el invierno de 2018, ambos lagos presentaron valores por debajo del límite de detección, siendo el estrato inferior del lago MO el más afectado por una disminución abrupta. Aunque no se observaron diferencias significativas entre lagos (RM ANOVA $p>0,05$), los resultados sugieren una posible variabilidad temporal en la disponibilidad de PRS en ambos sistemas acuáticos ($r=0,603$, $p=0,008$) (Figura II.13C).

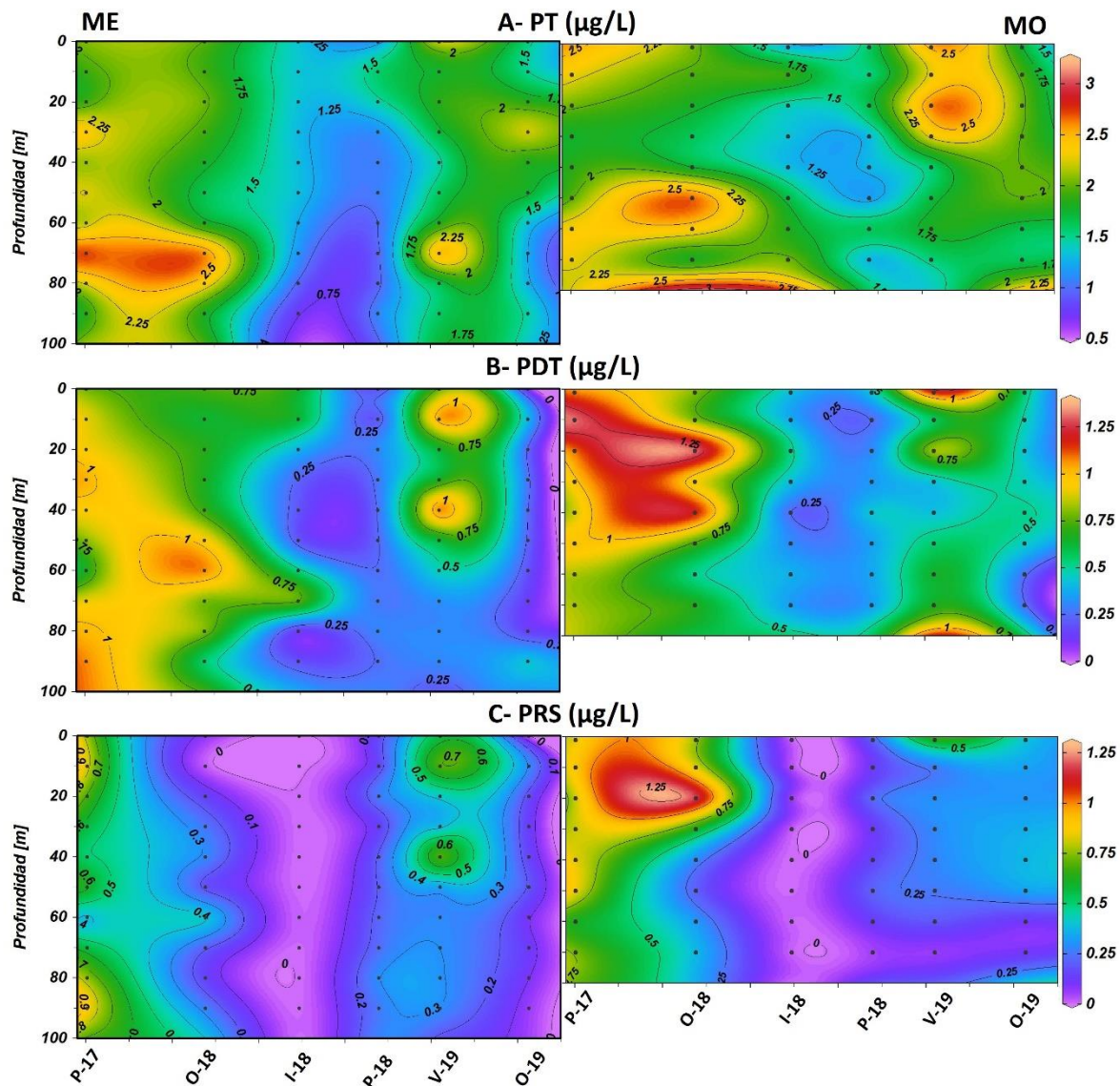


Figura II.13. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de las variables: A- Fósforo Total (PT); B- Fósforo disuelto total (PDT); C- Fósforo reactivo soluble (PRS). La escala de cada variable se encuentra a la derecha los paneles correspondientes.

Tabla II.5. Valores promedio, desvío estándar (D.E.) y rango (mínimos y máximos) de las variables físicas y químicas y de la concentración de clorofila *a* (Cl *a*) de los dos lagos durante todo el período de muestreo. *Referencias:* PRS: fósforo reactivo soluble; PT: fósforo total; PDT: fósforo disuelto total; NH₄: amonio; NO₃: nitrato; NO₂: nitrito, NT: nitrógeno total; NDT: nitrógeno disuelto total; NOD: nitrógeno orgánico disuelto, NPT: nitrógeno particulado total, adim: adimensional, n.d.: no detectable.

Variable	Unidades	Moreno Este				Moreno Oeste			
		Media	D.E.	Mín	Máx	Media	D.E.	Mín	Máx
PT	µg L ⁻¹	1,64	0,50	0,60	2,84	1,90	0,45	1,13	3,12
PDT	µg L ⁻¹	0,53	0,33	0,01	1,29	0,63	0,31	0,18	1,38
PRS	µg L ⁻¹	0,27	0,25	n.d.	0,91	0,35	0,31	n.d.	1,26
NT	µg L ⁻¹	104,13	28,13	56,59	191,34	114,06	31,09	62,87	204,92
NDT	µg L ⁻¹	79,93	28,44	31,49	181,06	81,83	19,57	39,99	132,04
NPT	µg L ⁻¹	24,21	13,29	0,23	58,96	32,23	26,30	2,18	107,31
NOD	µg L ⁻¹	62,53	23,21	24,58	151,25	69,70	19,05	27,94	108,47
NID	µg L ⁻¹	17,40	9,98	2,83	43,38	12,13	6,26	2,51	27,92
NH ₄	µg L ⁻¹	4,54	4,64	n.d.	26,26	4,06	2,58	n.d.	9,98
NO ₂	µg L ⁻¹	0,84	0,44	n.d.	1,91	0,88	0,38	0,06	1,46
NO ₃	µg L ⁻¹	12,03	8,38	1,38	38,25	7,19	5,76	0,25	21,21
SiO ₂	mg L ⁻¹	9,82	0,59	8,58	11,97	9,21	0,44	8,14	10,28

Nitrógeno (N)

Nitrógeno total

La concentración de nitrógeno total (NT) promedio para el lago ME fue de 104,13±28,13 µg L⁻¹ y de 114,06±31,09 µg L⁻¹ para el lago MO (Tabla II.5) y no se encontraron diferencias entre lagos (RM ANOVA p=0,229). El factor tiempo si resultó significativo (RM ANOVA p<0,05) y cada fecha difirió de la siguiente. Ambos lagos experimentaron un aumento significativo en la concentración de NT hacia principios de otoño de 2018, otoño de 2019 y también en el verano de 2019 (Figura II.14A). Además, el NT varió sincrónicamente encontrándose una correlación alta y significativa entre ambos lagos (r=0,778, p=0,0001).

Nitrógeno disuelto total

El nitrógeno total disuelto (NDT) promedio en el lago ME fue de $79,93 \pm 28,44 \mu\text{g L}^{-1}$ y en el MO de $81,83 \pm 19,57 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5). Durante la primavera de 2018 la concentración en el MO fue superior al ME (RM ANOVA $p < 0,05$).

El patrón general evidenció que el NDT se acumula en ambos lagos hacia el otoño, y no se encontraron diferencias significativas entre estratos (RM ANOVA $p < 0,05$) (Figura II.14B). Mientras que durante las primaveras las concentraciones fueron las más bajas, y ambos lagos se diferenciaron entre ellos siendo ME el que presentó menores concentraciones durante las primaveras 2017 y 2018 (RM ANOVA $p < 0,05$) (Figura II.14B). Al igual que con el NT, se encontró una correlación alta y significativa entre ambos lagos ($r = 0,802$, $p = 0,0001$)

Nitrógeno particulado total

La concentración media de nitrógeno particulado total (NPT, Figura II.14C) fue de $24,21 \pm 13,29 \mu\text{g L}^{-1}$ para el lago ME y en el lago MO la concentración media fue de $32,23 \pm 26,30 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5). Se encontraron interacciones significativas entre las fechas y el lago y entre las fechas y los estratos (RM ANOVA $p < 0,05$). En el lago ME el estrato superior aumentó hacia el otoño 2018 y disminuyó durante el invierno, volviendo a aumentar hacia el otoño siguiente (2019). El estrato medio de este lago aumentó durante el invierno (RM ANOVA $p < 0,05$), mientras que el estrato inferior se mantuvo sin cambios significativos entre muestreos. El lago MO experimentó un aumento significativo durante el verano 2019 (RM ANOVA $p < 0,05$) (Figura II.14C). Por último, la variación temporal de este parámetro fue sincrónica entre ambos lagos ($r = 0,528$, $p = 0,024$).

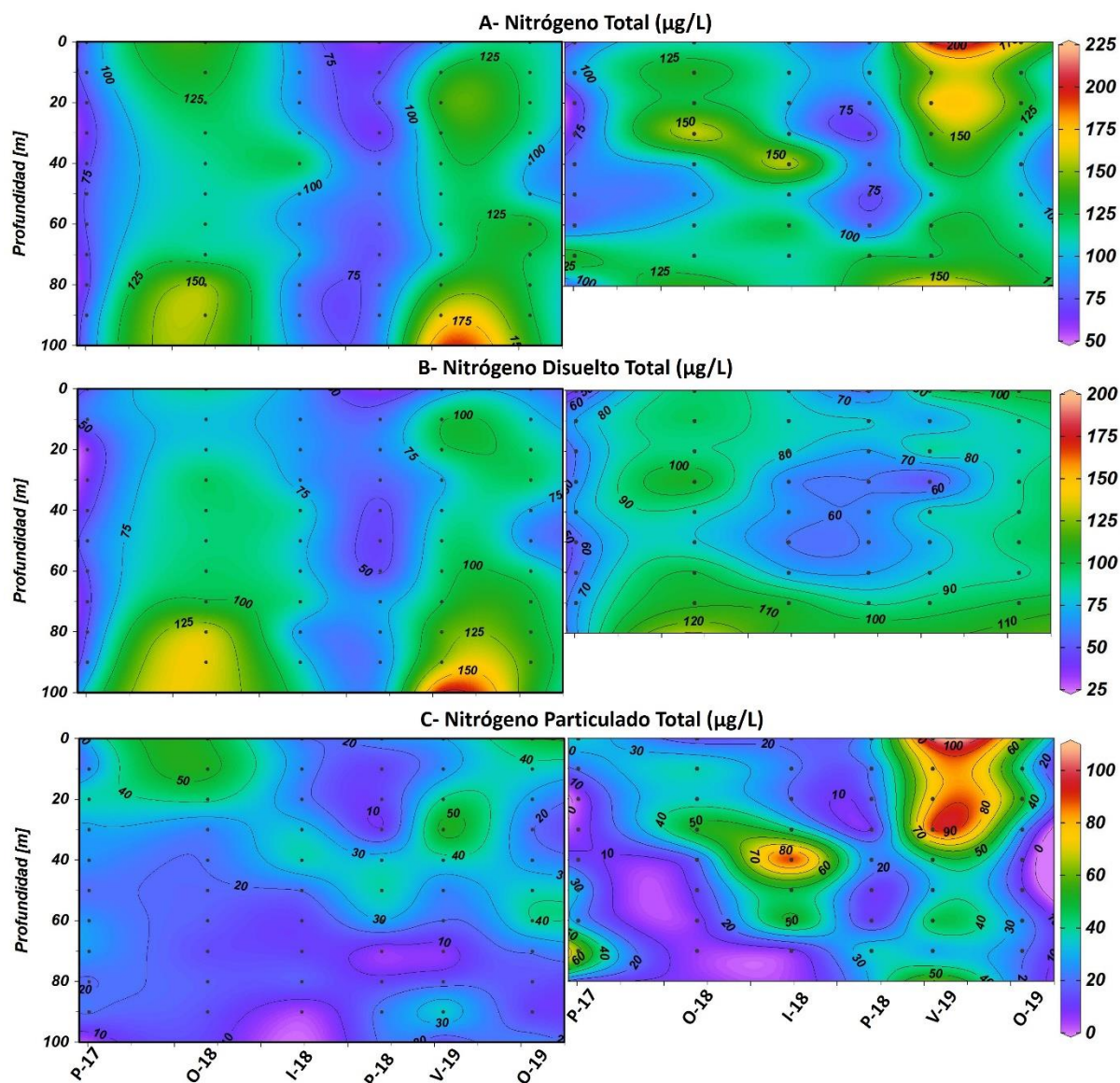


Figura II.14. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de las variables: A-Nitrógeno Total (NT); B- Nitrógeno disuelto total (NDT); C- Nitrógeno particulado disuelto (NPT). La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles correspondientes.

Nitrógeno orgánico disuelto

La concentración media de nitrógeno orgánico disuelto (NOD) para el lago ME fue de $62,53 \pm 23,21 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que para el lago MO fue de $69,70 \pm 19,05 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5, Figura II.15). (Tabla II.5). Durante las primaveras 2017 y 2018 la concentración media de NOD fue diferentes entre lagos (RM ANOVA $p < 0,05$), y además los valores fueron los más bajos registrados. Conforme se mantenía la estratificación (otoño 2018 y 2019 y verano 2019) fue

aumentando la concentración de NOD en ambos lagos en toda la columna de agua (Figura II.15). Ambos lagos experimentaron cambios sincrónicos para este parámetro ($r=0,719$, $p=0,0008$).

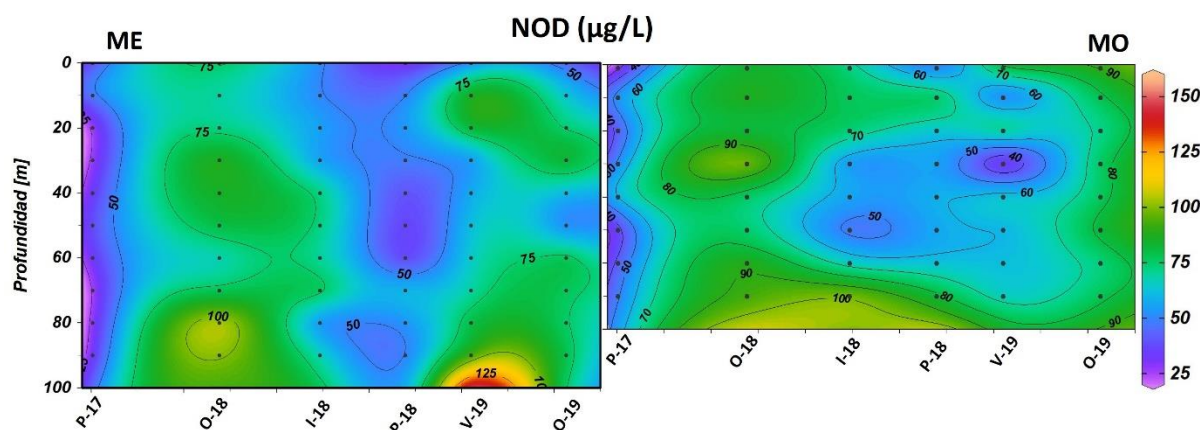


Figura II.15. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) del Nitrógeno orgánico disuelto (NOD). La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles.

Nitrógeno inorgánico disuelto

Las concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) variaron entre 2,51 y 43,38 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5), y no se encontraron diferencias significativas entre lagos. Ambos lagos presentaron una variación sincrónica para este parámetro ($r=0,707$, $p=0,001$). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre fechas de muestreo (RM ANOVA $p<0,05$), registrándose las mínimas concentraciones durante el invierno y la primavera de 2018. En el ME los estratos superior y medio no difirieron entre sí en el tiempo, mientras que el estrato inferior aumentó considerablemente la concentración de NID respecto a estos estratos durante la primavera de 2017 y otoño de 2018, y luego desde el verano de 2019 hasta el otoño de 2019, donde la estratificación térmica fue más fuerte (RM ANOVA $p<0,05$). En el MO no hubo diferencias entre estratos en la concentración de NID

Durante los meses en los que ambos lagos permanecieron estratificados (Figura II.3), el aumento de la fracción de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) fue significativo, y en especial del amonio y del nitrato (los cuales constituyeron alrededor del 23 y 71% del NID en el estrato inferior, respectivamente).

Amonio

La concentración de amonio (NH_4) media fue de $4,54 \pm 4,64 \mu\text{g L}^{-1}$ para el lago ME y de $4,06 \pm 2,58 \mu\text{g L}^{-1}$ para el lago MO (Tabla II.5; Figura II.16A). La variación temporal no fue sincrónica entre lagos ($r=0,409$, $p=0,092$) para este parámetro, observándose un desfase en la estacionalidad de los registros mínimos de ambos lagos. Las concentraciones de NH_4 fueron diferentes entre lagos durante el invierno de 2018 y el verano de 2019 (RM ANOVA $p<0,05$). En ambos lagos la interacción tiempo*estrato fueron significativas (RM ANOVA $p<0,05$) en el ME observó una disminución significativa a valores n.d. durante el invierno y primavera 2018 (RM ANOVA $p<0,05$), volviendo a acumularse en verano y otoño 2019. El lago MO mostró una disminución significativa desde principios del otoño 2018 hasta la primavera de 2018 cuando alcanzó valores n.d. (RM ANOVA $p<0,05$), volviéndose a acumular amonio durante el verano y otoño de 2019 (Figura II.16A).

Nitrito

En cuanto al nitrito (NO_2), la concentración media en el ME fue de $0,84 \pm 0,44 \mu\text{g L}^{-1}$ y de $0,88 \pm 0,38 \mu\text{g L}^{-1}$ en el lago MO (Tabla II.5, Figura II.16B). La variación temporal para este parámetro fue sincrónica ($r=0,829$, $p<0,0001$).

Nitrato

La concentración media de nitrato (NO_3) el lago ME fue de $12,03 \pm 8,38 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5, Figura II.16C). En este lago se registró el valor máximo en el hipolimnion a 100 m de profundidad durante el otoño 2018. En cambio, en el lago MO la concentración media fue de

7,19±5,76 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla II.5). La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $p<0,05$), encontrándose diferencias entre los lagos durante otoño, invierno y primavera 2018, donde la concentración media fue mayor en el ME. En el lago ME la interacción tiempo*estrato fue significativa (RM ANOVA $p<0,05$) y el estrato inferior tuvo concentraciones significativamente mayores durante la primavera 2017, otoño 2018, verano y primavera 2019. Mientras que durante el invierno y primavera 2018 las concentraciones se equipararon en toda la columna de agua (Figura II.16C). Además, dentro del estrato inferior (del ME) se registró un incremento significativo entre la primavera de 2017 y principios del otoño de 2018, y entre el verano de 2019 y el otoño de 2019 (RM ANOVA $p<0,05$).

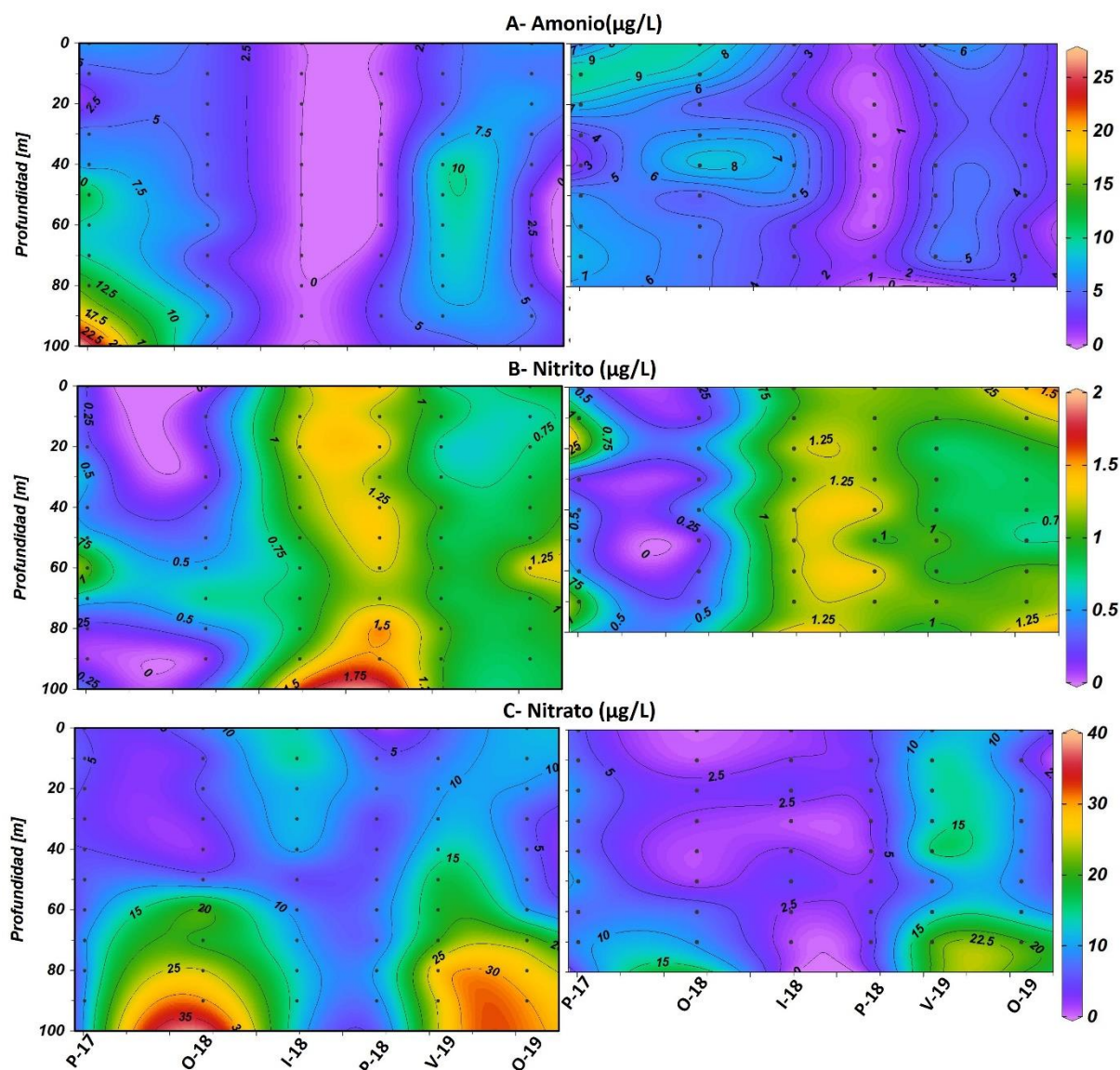


Figura II.16. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de las variables: A- Amonio (NH_4); B- Nitrito (NO_2); C- Nitrato (NO_3). La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro.

El lago MO presentó variaciones en el tiempo de la concentración de NO_3 (RM ANOVA $p < 0,05$) sin tener diferencias significativas entre estratos (RM ANOVA $p > 0,05$). Sin embargo, la columna de agua cuando estaba estratificada mostró un claro patrón de mayores concentraciones de NO_3 en el estrato inferior. En ambos lagos la mezcla invernal disminuyó e igualó las concentraciones de los estratos. Principalmente estos resultados indican la conformación de una nitracлина durante la estratificación, siendo esto mucho más marcado en el ME. En el MO este patrón se observa con menor intensidad sin llegar a ser significativo

(Figura II.16C, Figura II.18). A pesar de las diferencias entre lagos, el NO_3 varió de manera sincrónica ($r=0,564$, $p=0,014$).

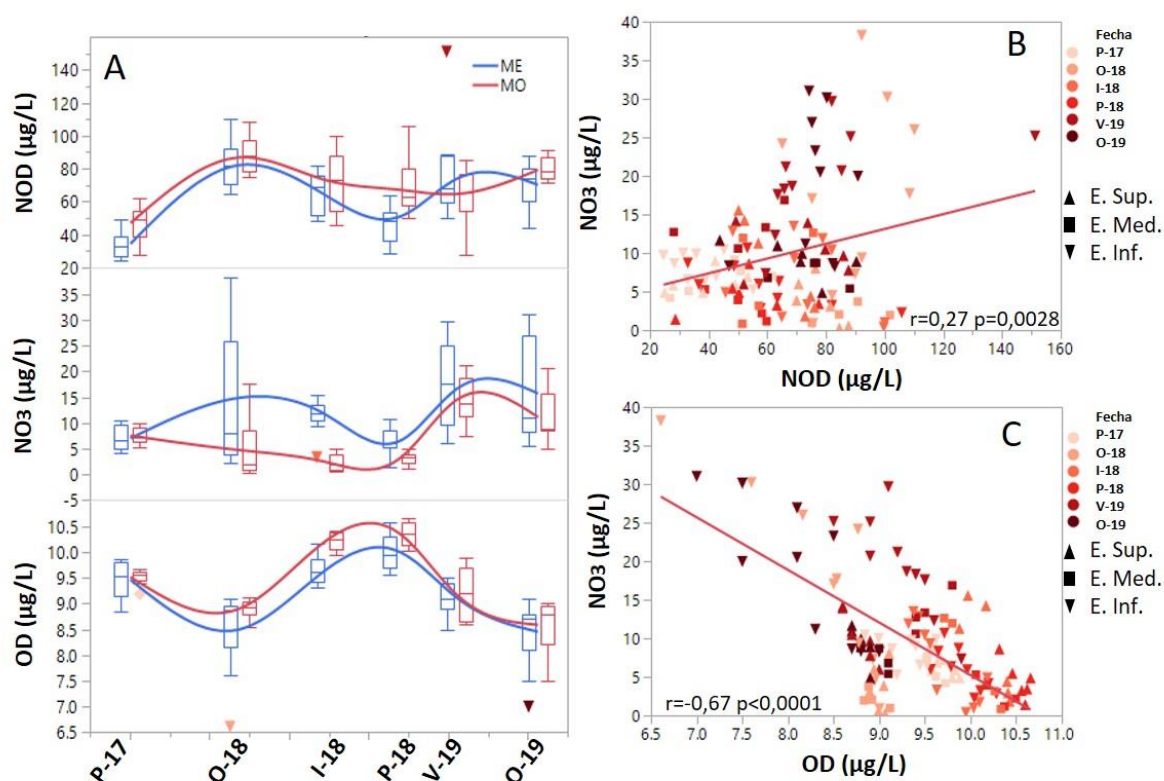


Figura II.17. A. Box plots con media y DE y línea de tendencia de la fluctuación del nitrógeno orgánico disuelto (NOD), nitrato (NO_3) y oxígeno disuelto (OD) durante los muestreos para los lagos ME y MO, considerando los valores de toda la columna de agua. B. Correlación entre el nitrato (NO_3) y el NOD. C. Correlación entre el nitrato (NO_3) y oxígeno disuelto (OD).

La fluctuación media del NOD fue acompañada por un patrón muy similar del NO_3 , la correlación entre estos parámetros para ambos lagos fue positiva y significativa ($r= 0,27$ $p=0,0028$, Figura II.17 A y B).

Por otra parte, se encontró una fuerte correlación negativa entre el NO_3 y el OD en ambos lagos ($r= -0,67$, $p<0,0001$, Figura II.17 A y C). En particular, se evidenció que esta correlación negativa fue mayor al analizar sólo el estrato inferior del lago ME ($r= -0,82$, $p=0,048$).

El acople temporal de estos parámetros, junto con la estratificación térmica, dan la pauta de los procesos que pueden estar ocurriendo. En particular, los compuestos orgánicos nitrogenados

(NOD), pueden formar nitrato a través de la vía oxidativa, en presencia de oxígeno (amonificación → nitrificación, Figura II.1). Así, conforme se establece la estratificación térmica y las masas de agua del hipolimnion quedan aisladas (Figura II.18 fechas primavera 2017, otoño 2018, verano 2019 y otoño 2019), se observa por un lado la disminución del OD, y el aumento del NO_3 . Mientras que durante el invierno la temperatura del agua se homogeniza y ocurre una holomixis de los nutrientes y del NO_3 (Figura II.18 fechas invierno 2018 y primavera 2018).

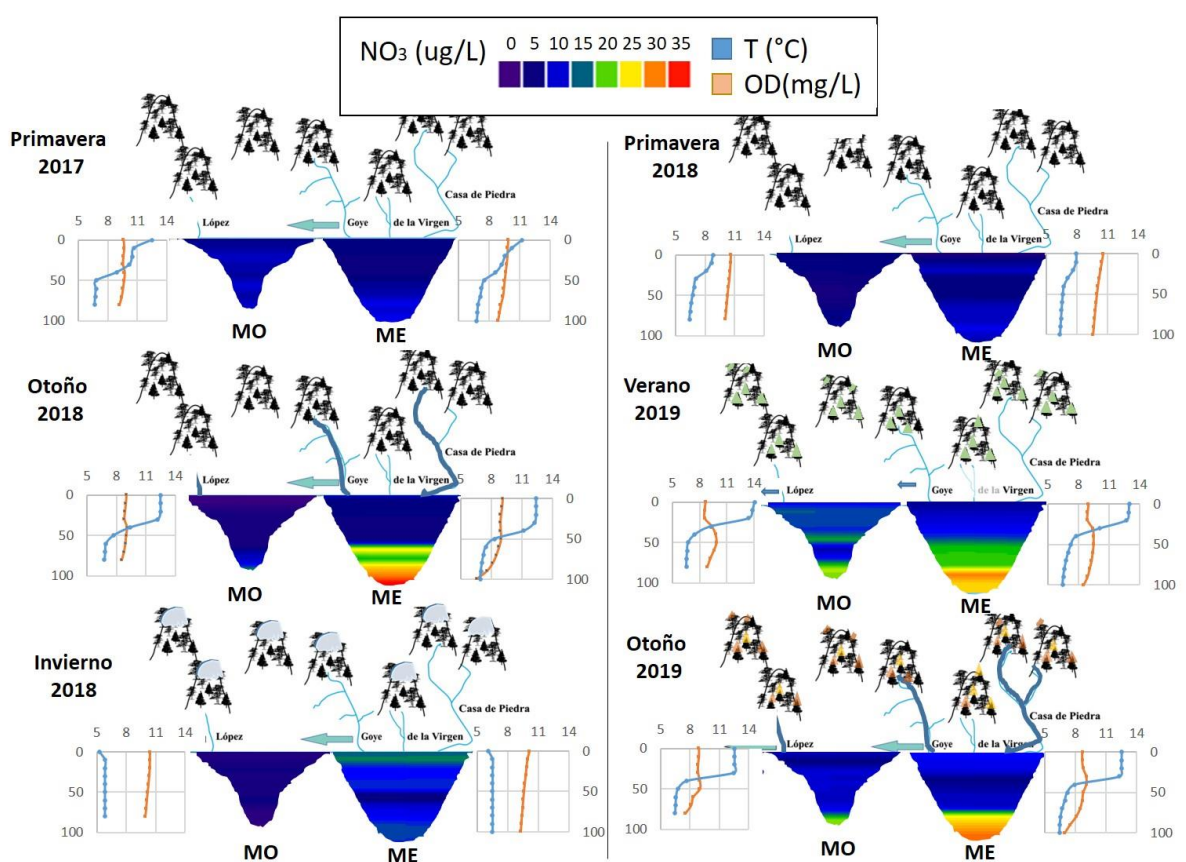


Figura II.18. Esquema de los resultados para la concentración de NO_3 , estratificación térmica, OD. Primavera 2017: inicio del establecimiento de la termoclina, marcada diferencia entre lagos, concentraciones de OD y NO_3 sin diferencias en la columna de agua; otoño 2018: termoclina muy marcada, disminución notable del OD en el fondo, establecimiento de la nitracлина en ME; invierno 2018: mezcla de toda la columna de agua y restablecimiento de los niveles de OD, homogeneización del nitrato en la columna de agua; primavera 2018: comienzo de la estratificación, sin grandes diferencias en la columna de agua para OD y NO_3 ; verano 2019: termoclina muy marcada, disminución del OD y fuerte aumento del nitrato en el estrato inferior; otoño 2019: se acentúan las diferencias respecto al verano y aumenta la concentración de nitrato en el estrato inferior y disminuye el OD. Esquema de los lagos y las cuencas modificado de Queimaliños et al. (2012).

Sílice disuelto

El sílice disuelto (SiO_2) medio en el lago ME presentó una concentración de $9,82 \pm 0,59 \text{ mg L}^{-1}$, mientras que el MO presentó una concentración media de $9,21 \pm 0,44 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabla II.5). La variación temporal no fue sincrónica entre ambos lagos ($r = -0,280$, $p = 0,259$). Durante el invierno de 2018, la primavera de 2018 y el otoño de 2019, se observaron diferencias significativas entre ambos lagos, siendo ME el que presentó concentraciones más altas de SiO_2 (RM ANOVA $p < 0,05$; Tabla II.5, Figura II.19).

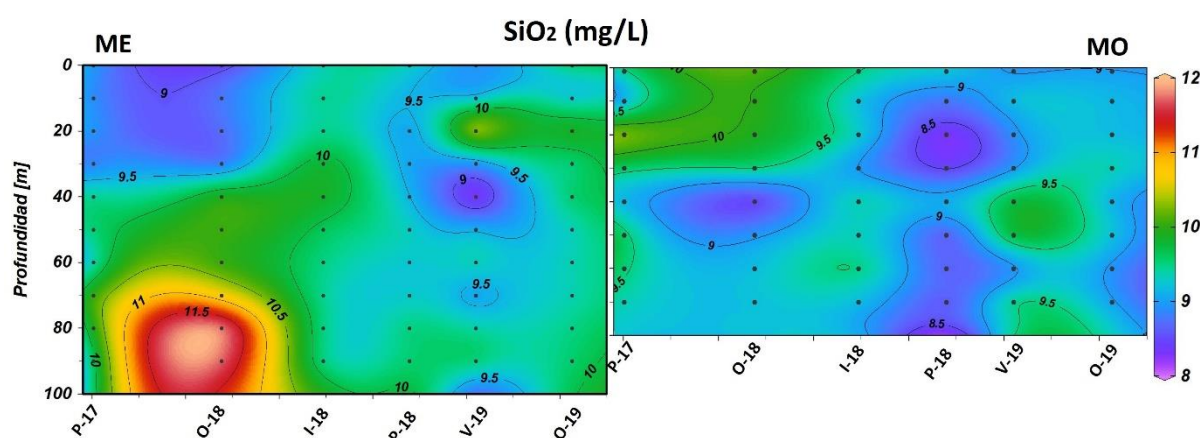


Figura II.19. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) del Sílice disuelto (SiO_2). La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles.

II.3.4 Limitación por nutrientesNID:PT

La relación NID:PT presentó una media de $24,7 \pm 14,2$ para el lago ME y de $14,26 \pm 7,56$ para el MO (Figura II.20). En particular, durante las primaveras 2017 y 2018 los lagos fueron diferentes (RM ANOVA $p < 0,05$), y en ambos momentos la relación fue mayor en el ME respecto al MO. Además, se observaron diferencias entre los estratos del lago ME, siendo el estrato inferior el que presentó las relaciones más altas (RM ANOVA $p < 0,05$). Por otro lado, el MO no registró diferencias significativas entre estratos. Esta relación NID:PT es un

indicador importante de sistemas limitados por nutrientes, siendo los valores superiores a 7,5 indicativos de una limitación por fósforo en condiciones iluminadas, según Bergström (2010). En este sentido, se evidencia que el lago ME se encuentra más limitado que el MO para estos nutrientes, en especial en su estrato inferior en el cual además se superpone con la limitación por la luz y donde se acumula una cantidad considerable de nitrato, como se describió previamente.

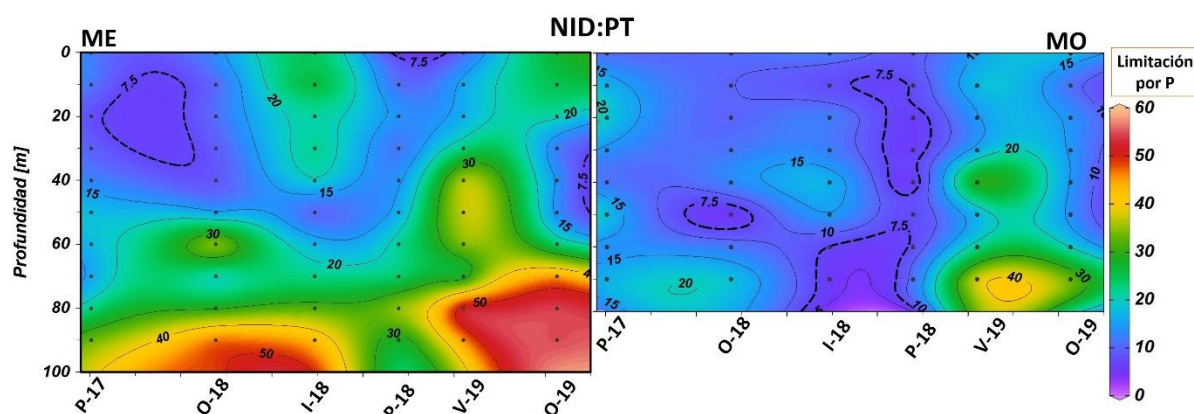


Figura II.20. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de la relación NID:PT en ambos lagos. La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles. La línea punteada que resalta el límite de relación de 7,5 para sistemas con limitación de nutrientes.

Si:PT

La relación molar Sílice:fósforo total (Si:PT) para el lago ME fue en promedio de $7,3 \pm 2,65$, y para el MO este cociente fue de $5,63 \pm 1,27$ (Figura II.21). La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) siendo los lagos diferentes entre sí durante el invierno y la primavera 2018 y el otoño 2019, donde el lago ME tuvo mayores relaciones de esta relación. Ambos lagos registraron un aumento durante el invierno y la primavera 2018. El lago ME experimentó variaciones en el tiempo y entre los estratos (RM ANOVA $p < 0,05$), presentando valores más elevados durante el invierno. En particular, el estrato inferior, el cual está limitado

por luz, fue significativamente mayor que el superior (RM ANOVA $p < 0,05$). En el lago MO se observó interacción tiempo*estrato (RM ANOVA $p < 0,05$) donde el estrato inferior fue significativamente menor durante las épocas que el lago se encontraba estratificado.

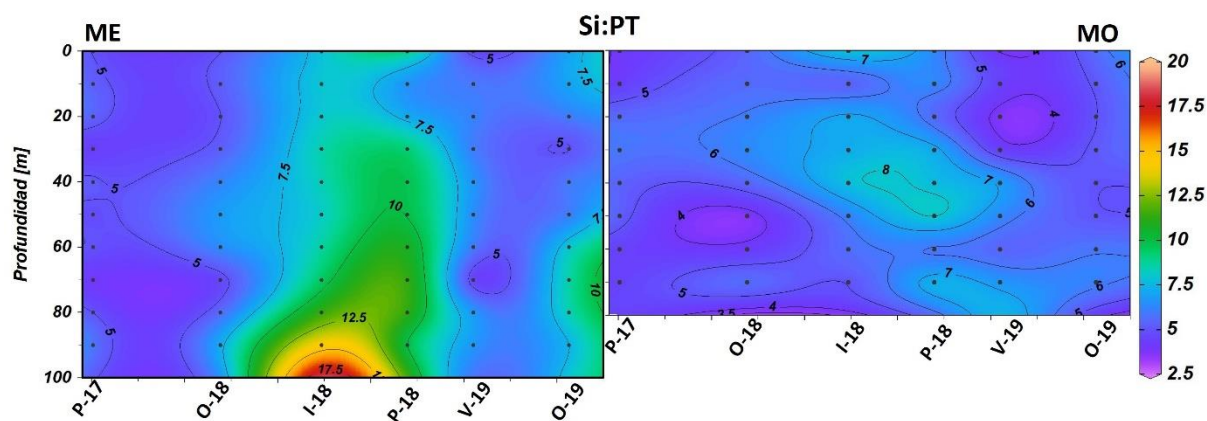


Figura II.21. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad de en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) del cociente Si:PT en ambos lagos. La escala de la variable se encuentra a la derecha de los paneles.

II.3.5 Integración de variables

Sincronía

En general y resumiendo los resultados expresados para las numerosas variables descriptas anteriormente, este análisis reveló una correlación de *Pearson* positiva y significativa ($p < 0,05$) en todas las variables, excepto en los casos del NH_4 ($p = 0,09$), BIX ($p = 0,57$), SiO_2 ($p = 0,25$), y C3:COD ($p = 0,76$).

Análisis de componentes principales

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales con el objetivo de observar patrones subyacentes en la variación de las variables analizadas estadísticamente dada la complejidad de los datos. Se eliminaron las variables altamente correlacionadas previamente detectadas mediante un análisis de VIF (variables eliminadas: TDN, NO_2). Este análisis se realizó utilizando todas las muestras obtenidas en el estudio ($N = 120$) (Figura II.22). En este caso el

análisis se enfoca en la variación estacional en ambos lagos. El primer eje explicó el 21,7% de la variación total, mientras que el segundo eje explicó el 17,5%, lo que en conjunto significó una explicación del 39,3% de la variación total.

Para el primer componente principal, las variables con correlaciones más altas y positivas ($> 0,40$) fueron [OD], $S_{275-295}$, COD, la temperatura, PRS, PDT (Figura II.22, a la derecha de la figura se encuentran las correlaciones). Además, Iz, el nivel del agua y las precipitaciones acumuladas también tuvieron correlaciones positivas, pero de menor magnitud. Por otro lado, las variables con correlaciones más negativas en el eje 1 fueron el NO_3 (junto con NOD y NT en menor medida correlaciones entre -0,27 y -0,23 respectivamente), SSI, ad_{435} (proxy de STS), el área del lago y C1:COD, C2:COD, HIX, a^*_{350} , y SiO_2 .

En cuanto al segundo componente principal, se observó que las variables con correlaciones más altas y positivas ($> 0,40$) fueron las precipitaciones acumuladas, ad_{435} , [OD], Zmix:Zeu, Cla y el nivel del agua. Mientras que las variables con correlaciones más negativas fueron la temperatura, SSI, PT, PRS, PDT, COD, NO_3 y NH_4 (Figura II.22, a la derecha de la figura se encuentran las correlaciones).

En el *biplot* (Figura II.22) las 120 muestras quedaron en primer lugar separados los lagos, y además las fechas siendo caracterizadas según variables más relevantes. A su vez, las muestras correspondientes a las fechas en que los lagos se encontraron estratificados se encontraron separadas. De manera tal que dentro del *biplot* puede establecerse una división implícita (ver Figura II.22 líneas punteadas) caracterizando las masas de agua. El lago MO ubicado mayoritariamente en los cuadrantes I y IV, mientras que el lago ME se distribuye principalmente en los cuadrantes II y III y en menor medida en el I y IV (Figura II.22).

Esta división separando las muestras de agua de los dos lagos es transversal a los ejes 1 y 2 (Figura II.22, línea punteada naranja), y en mayor medida las variables que corren en sentido

perpendicular es la ad_{435} , C1:COD y C2:COD caracterizando al ME con mayor turbidez y MOD más húmica, mientras que mayores valores de COD y PRS caracterizan al MO. Por otra parte, el segundo eje de separación es acorde a la presencia o ausencia de estratificación térmica.

En este contexto, quedaron cercanas las masas de agua correspondientes a la mixis de invierno y de la primavera temprana de 2018 (que presentó un calentamiento superficial muy incipiente; Figura II.22 óvalo marrón), y por otro lado, las masas de agua durante la estratificación (otoño 2018-2019 y verano 2019). Dentro del primer grupo, el ME se caracterizó por mayores valores de ad_{435} y de $Z_{mix}:Z_{eu}$ en invierno, mientras que en la primavera 2018 se caracterizó por mayores valores de precipitaciones acumuladas y de Cla. En tanto el MO en invierno se caracterizó por mayor Cla, mientras que la primavera 2018 por mayores niveles de agua, de [OD], y de Cla. Opuestos a estos se encuentran las masas de agua que se encuentran estratificadas y por lo tanto hay una mayor dispersión de los datos. El ME se caracterizó por mayores concentraciones de formas de nitrógeno, y en particular el otoño 2019 estuvo especialmente caracterizado por el nitrato (que conforma la nitraclina), la menor [OD]. En tanto el MO se caracterizó por mayores concentraciones de P y mayor BIX. Por último, las muestras correspondientes a la primavera 2017, que fue una primavera “tardía”, conformaron un solo grupo para ambos lagos, y estuvieron caracterizadas en mayor medida por mayores valores de Iz, COD y $S_{275-295}$ (menor tamaño molecular de la MOD) (Figura II.22).

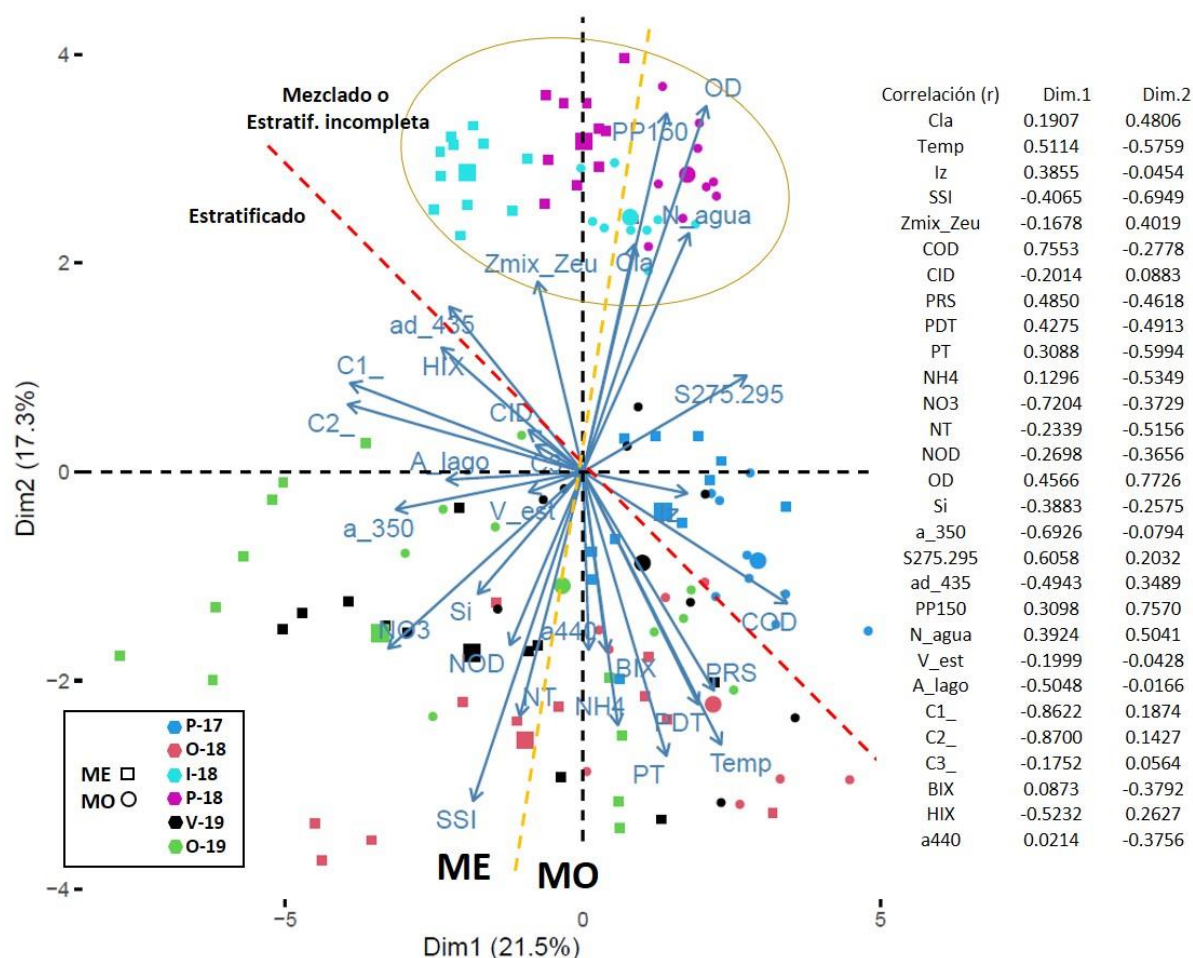


Figura II.22. Análisis de Componentes Principales (PCA). Izquierda: *Biplot* estandarizado para los lagos ME (cuadrados) y MO (círculos) en las diferentes fechas, utilizando como variables los parámetros morfométricos, hidrológicos, físico y químicos y de Cla. La línea punteada naranja señala el eje de separación entre lagos y la línea punteada roja la separación de estratificación. Los cuadrados y los círculos de mayor tamaño relativo indican el promedio de los valores por lago y fecha, mientras que los pequeños corresponden a todas las muestras de las cuales se desprende el análisis (N=120). Referencias: Cla: clorofila *a*; PRS: fósforo reactivo soluble; PT: fósforo total; PDT: fósforo disuelto total; NH4: amonio; NO3: nitrato; NT: nitrógeno total; NOD: nitrógeno orgánico disuelto; COD: carbono orgánico disuelto; CID: carbono inorgánico disuelto; a440: absorción a 440 nm; a_350: abs a350 nm normalizada por COD; S275-295: pendiente espectral 275-295 nm; C1_/C2_/C3_: componentes 1, 2 y 3 normalizados por COD; BIX: índice biológico; HIX: índice de humificación; Iz: irradiancia en la columna de agua; V_est: volumen estrato; Temp: temperatura; Si: sílice disuelto; Zmix:Zeu: relación capa mezcla y capa iluminada; N_agua: nivel del agua; A_lago: área del lago; PP150: precipitaciones acumuladas 150 días. Derecha: correlaciones (r) de las variables con dim1 y 2.

Para determinar las variaciones dentro de cada lago y teniendo en cuenta los análisis previos, se llevaron a cabo análisis de componentes principales por separado para cada uno de ellos. En estos casos se destacó el análisis por estratos.

En el caso del lago ME (Figura II.23), el primer eje explicó el 25,8% de la variación total, mientras que el segundo eje explicó el 20,3%, lo que representa el 46,1% de la variación total. Las correlaciones del eje 1 más fuertes y positivas ($> 0,40$) fueron con [OD], $S_{275-295}$, precipitaciones acumuladas, volumen del estrato, COD, PRS, PDT, temperatura y nivel del agua. Mientras que presentaron correlaciones negativas para las formas de nitrógeno (NOD, NO_3 , NT), los componentes normalizados C1 y C2, a^*_{350} , ad_{435} , CID, SSI y HIX. Las correlaciones del eje 2 fueron positivas para $Z_{mix:Zeu}$, Cla, CID, [OD], precipitaciones acumuladas, HIX, y negativas para T, SSI, COD y las formas de fósforo (PRS, PDT, PT), BIX y NH_4 .

Las muestras (N=66) en el *biplot* se separaron en tres sectores (Figura II.23 óvalos) respecto a la estructura de las masas de agua (mezclado y con estratificación incipiente, estratificado estrato inferior y estratificado estrato superior y medio). Durante invierno las masas de agua se caracterizaron por un mayor $Z_{mix:Zeu}$, en tanto que en primavera 2018 por mayores niveles de agua, [OD], precipitaciones acumuladas y Cla. Por otro lado, durante la estratificación las masas de agua se encontraron separadas acorde a los estratos. Los estratos inferiores se caracterizaron por mayores concentraciones de NOD y de NO_3 (conformando la nitraclina) y de C3:COD; en tanto que los estratos medio y superior se caracterizaron por mayores temperaturas, COD, BIX y formas de fósforo. La primavera de 2017 quedó caracterizada por mayores valores de $S_{275-295}$, Iz y menores de HIX, C1:COD, C2:COD, CID y ad_{435} (Figura II.23).

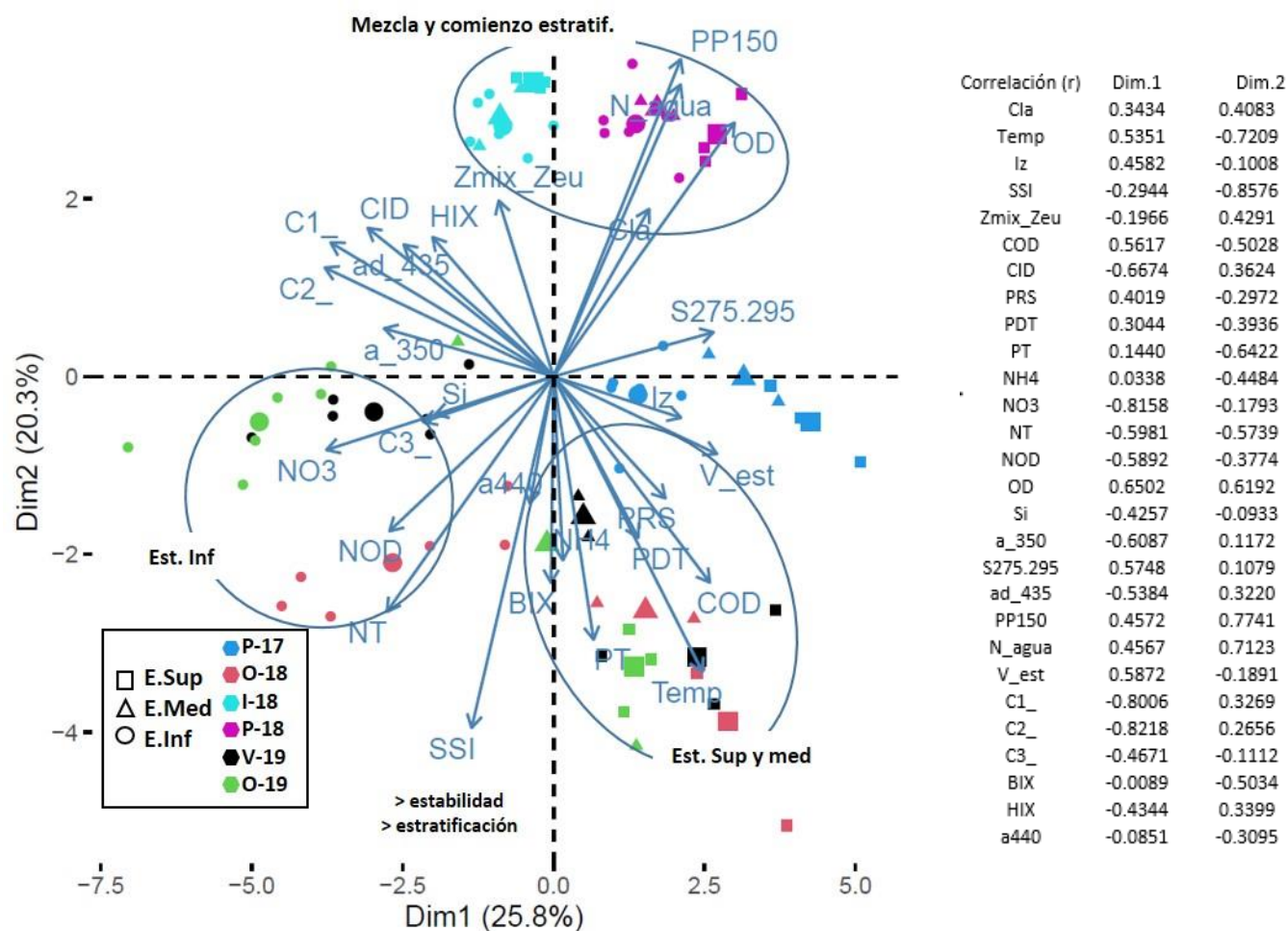


Figura II.23. Análisis de Componentes Principales (PCA). Izquierda: *Biplot* estandarizado para el lago ME en las diferentes fechas, utilizando como variables los parámetros morfométricos, hidrológicos, físico y químicos y de Cla. Los símbolos de mayor tamaño relativo indican el promedio de los valores por fecha y estrato, los pequeños corresponden a todas las muestras de las cuales se desprende el análisis (N=66). *Referencias:* Cla: clorofila a ; PRS: fósforo reactivo soluble; PT: fósforo total; PDT: fósforo disuelto total; NH₄: amonio; NO₃: nitrato; NT: nitrógeno total; NOD: nitrógeno orgánico disuelto; COD: carbono orgánico disuelto; CID: carbono inorgánico disuelto; a₄₄₀: absorción a 440 nm; a₃₅₀: abs a350 nm normalizada por COD; S₂₇₅₋₂₉₅: pendiente espectral 275-295 nm; C1_/C2_/C3_: componentes 1, 2 y 3 normalizados por COD; BIX: índice biológico; HIX: índice de humificación; Iz: irradiancia en la columna de agua; V_{est}: volumen estrato; Temp: temperatura; Si: sílice disuelto; Zmix:Zeu: relación capa mezcla y capa iluminada; N_{agua}: nivel del agua; A_{lago}: área del lago; PP150: precipitaciones acumuladas 150 días. Derecha: correlaciones (r) de las variables con dim1 y 2.

En el caso del lago MO (Figura II.24), el primer eje explicó el 21,3% de la variación total, mientras que el segundo eje explicó el 21,2% de la variación, lo que representa el 42,5% de la variación total.

Las correlaciones altas y positivas ($> 0,40$) con el eje 1 fueron del $S_{275-295}$, T, COD, PRS, [OD], ad_{435} , precipitaciones acumuladas y volumen estrato (Figura II.24 ver correlaciones). Mientras que presentaron correlaciones negativas con NO_3 , los componentes C1 y C2 normalizados, a^*_{350} , HIX y CID. El eje 2 presentó correlaciones positivas con [OD], precipitaciones acumuladas, ad_{435} , Cla, precipitaciones acumuladas y en menor medida con Zmix:Zeu. Mientras que presentó correlaciones negativas con la temperatura, SSI, BIX, COD y las formas de fósforo (PRS, PDT, PT), NH_4 y el sílice.

Al igual que se observó en el lago ME, se observaron tres separaciones en el *biplot* ($N=54$), donde en términos generales, el primer eje separó las muestras correspondientes al invierno junto y la primavera de 2018, mientras que el segundo eje separó el estrato inferior de los estratos superior y medio durante los períodos de estratificación (otoños de 2018-2019 y el verano de 2019; Figura II.24 óvalos).

Las masas de agua de invierno junto con la de primavera 2018 se caracterizaron por mayor [OD], ad_{435} , mayores precipitaciones acumuladas y la primavera especialmente por mayor concentración de Cla. En tanto que las muestras correspondientes a las fechas donde el lago está estratificado, el eje 2 separó las muestras durante la estratificación correspondientes al estrato inferior (cuadrante III) por mayores concentraciones de NO_3 , NOD y mayor a^*_{350} . Los estratos superior y medio durante las épocas que el lago estaba estratificado quedaron representados en el cuadrante IV, caracterizados por mayores concentraciones de formas de fósforo, COD, BIX, SiO_2 . Al igual que ocurrió en el ME la primavera de 2017 quedó caracterizada por mayores valores de COD y de Iz (Figura II.24).

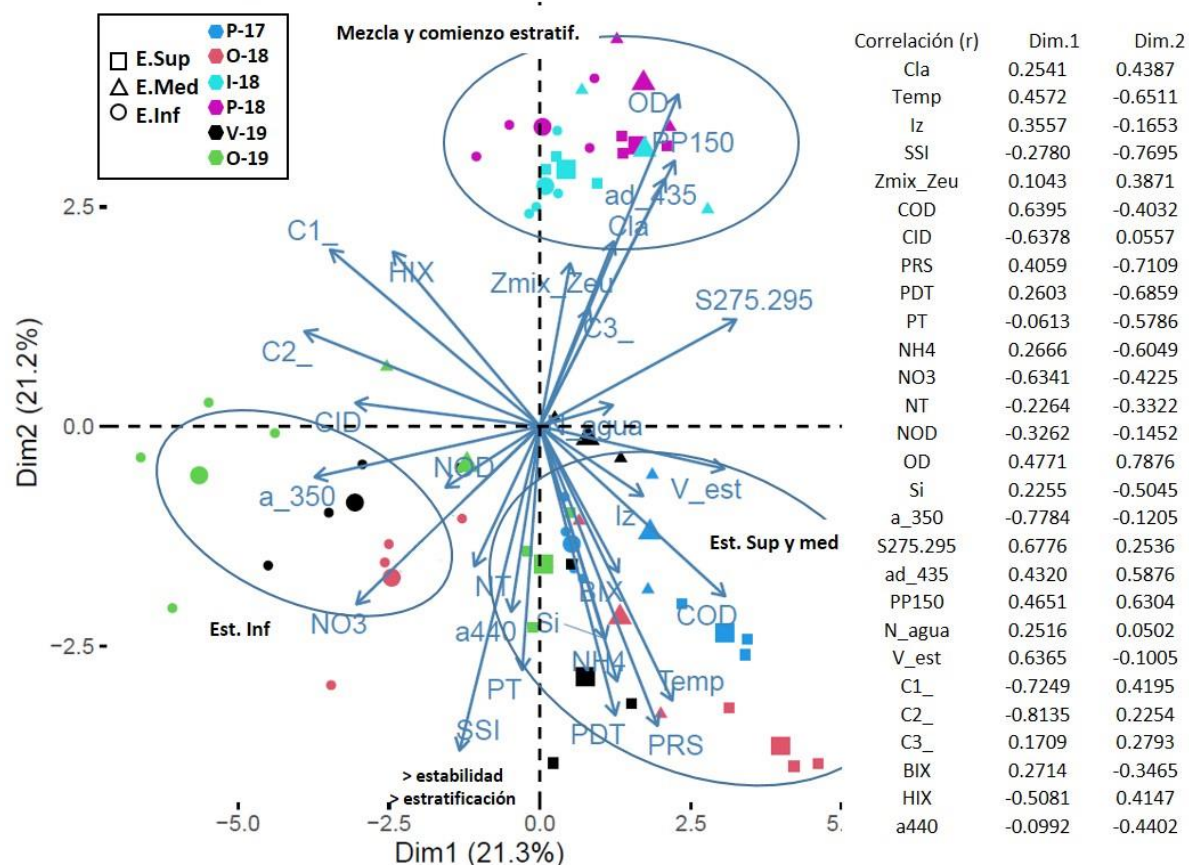


Figura II.24. Análisis de Componentes Principales (PCA). Izquierda: *Biplot* estandarizado para el lago MO en las diferentes fechas, utilizando como variables los parámetros morfométricos, hidrológicos, físico y químicos y de Cla. Los símbolos de mayor tamaño relativo indican el promedio de los valores por fecha y estrato, los pequeños corresponden a todas las muestras de las cuales se desprende el análisis (N=54). *Referencias:* Cla: clorofila α ; PRS: fósforo reactivo soluble; PT: fósforo total; PDT: fósforo disuelto total; NH₄: amonio; NO₃: nitrato; NT: nitrógeno total; NOD: nitrógeno orgánico disuelto; COD: carbono orgánico disuelto; CID: carbono inorgánico disuelto; a₄₄₀: absorción a 440 nm; a₃₅₀: abs a350 nm normalizada por COD; S₂₇₅₋₂₉₅: pendiente espectral 275-295 nm; C₁/C₂/C₃: componentes 1, 2 y 3 normalizados por COD; BIX: índice biológico; HIX: índice de humificación; Iz: irradiancia en la columna de agua; V_{est}: volumen estrato; Temp: temperatura; Si: sílice disuelto; Zmix:Zeu: relación capa mezcla y capa iluminada; N_{agua}: nivel del agua; A_{lago}: área del lago; PP150: precipitaciones acumuladas 150 días. Derecha: correlaciones (r) de las variables con dim1 y 2.

Discusión

El estudio integrador de las variables ambientales que afectan a los lagos Moreno Este y Moreno Oeste permitió obtener numerosos resultados que, en líneas generales, estuvieron en consonancia con su condición de monomíctico cálidos. Considerando que esta investigación se

desarrolló con frecuencia estacional, iniciando en primavera y durante casi un año y medio, se abarcaron tres períodos del ciclo monomítico que presentan los lagos. De estos períodos, dos de ellos se caracterizaron fundamentalmente por la presencia de una estratificación térmica incipiente, o bien definida, durante las estaciones de primavera-verano. Entre ambos períodos de estratificación, quedó definida la época invernal caracterizada por la mixis de la columna de agua (Figuras II.3A y B). De esta manera, en ambos lagos se generaron “masas de agua” que cambiaron sus características y su volumen durante el transcurso del estudio. En los períodos de estratificación se generaron “masas superficiales e intermedias” más cálidas y completamente iluminadas, acompañadas por “masas inferiores” más frías y parcial o completamente oscuras (Figuras II.3A y B, y II.6). Por otra parte, durante el período de mixis invernal, se registraron “masas completas” de los lagos, ya que la mezcla convectiva incluyó a toda la columna de agua (holomixis) (Figuras II.3A y B).

Durante todo el período estudiado, las concentraciones del carbono orgánico disuelto, de P y N fueron muy bajas ($\text{COD} < 0,9 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{PT} < 3,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, $\text{NT} < 205 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), confirmando el estado oligotrófico o ultraoligotrófico de los lagos. En contraste se registraron concentraciones moderadas a altas de SiO_2 ($8\text{-}12 \text{ mg L}^{-1}$) (Tablas II.2 y II.5). Estas concentraciones se encontraron dentro de los rangos previamente registrados en lagos andino-patagónicos (p.e. Balseiro et al., 2007; Díaz et al., 1998; Díaz & Pedrozo, 1993; Queimaliños, 2002; entre otros). Los antecedentes de lagos de la región resultan muy valiosos para compararlos con los datos obtenidos en este análisis de ambos lagos en el que se consideró simultáneamente la variación estacional y del perfil vertical de toda la columna de agua. Como se mencionó en el Área de estudio, los antecedentes limnológicos de estos lagos se refieren principalmente a datos obtenidos dentro la zona eufótica (Balseiro et al., 2004; Callieri et al., 2007; Markert et al., 1997; Modenutti et al., 2000, 2013; Queimaliños et al., 1999, 2002), o del epilimnion (Balseiro et al., 2007; Diaz et al., 1998, 2000; Pedrozo et al., 1993). Por otro lado, generalmente los

muestreos se limitaron a las estaciones de mejores condiciones climáticas como la primavera tardía (Markert et al., 1997), verano e inicio del otoño, siendo el invierno sub-representado en los estudios de lagos andino-patagónicos. En este contexto, los datos novedosos que aporta el presente estudio se relacionan con las características de la “masa de agua invernal” y de las “masas inferiores” en los lagos Moreno, los cuales se irán analizando a lo largo de esta discusión, y los capítulos siguientes.

Hoy en día, muchos estudios evidenciaron la relevancia e influencia que tiene la mixis invernal en múltiples factores, físicos, químicos y biológicos en el funcionamiento de los ambientes (Bayer et al., 2016; Rogora et al., 2018, entre otros). De hecho, Salmaso et al. (2003) enfatizaron que la mezcla vertical en lagos profundos es un factor importante para determinar la evolución anual de las características físicas y químicas a lo largo de la columna de agua y para controlar el desarrollo de la biomasa algal.

En relación con los nutrientes, el principal resultado de este Capítulo es que se reporta por primera vez la existencia de una quimioclina de nitrato (nitraclina) en dos lagos andino-patagónicos (Figura II.16c). La importancia de este resultado radica en que la acumulación de nitratos en el hipolimnion de ambos lagos se produce como consecuencia de diversos procesos. En primera instancia, la nitrificación biológica constituye la única fuente conocida de nitrato y, como tal, se produce a partir de la mineralización del N orgánico, tanto particulado como disuelto (Wetzel, 2001). La transformación del nitrógeno orgánico disuelto (NOD) en NO_3 incluye dos pasos que implican actividad microbiana: en primer lugar, el NOD se convierte en NH_4 mediante la amonificación; en segundo lugar, el NH_4 se transforma en NO_2 , y luego en NO_3 por nitrificación (Wetzel, 2001; Xia et al., 2013). Berman & Bronk (2003) señalaron que el NOD es un participante fundamental en el ciclo del nitrógeno en los sistemas acuáticos, y que suele ser la forma nitrogenada dominante del nitrógeno total, hecho que se observa en los lagos Moreno (ver Tabla II.5). Otro proceso relevante asociado a la nitrificación es que se trata

de una reacción que requiere oxígeno tanto en la oxidación del C durante la respiración bacteriana, como en la oxidación del N a lo largo de la cadena de reacciones NOD-NH₄-NO₂-NO₃. De esta manera, la nitrificación es un proceso que tiene el potencial de contribuir a la hipoxia en los sistemas lacustres (Clevinger et al., 2014).

En este contexto, para comprender cuáles son las eventuales fuentes de NOD para la nitrificación, es necesario analizar la dinámica de la materia orgánica particulada (MOP) y de la MOD. En cuanto a la fracción particulada, la erosión moviliza la materia orgánica particulada proveniente de la vegetación terrestre, transfiriéndola a los ríos y estos a los sedimentos de los sistemas receptores (Hill & West, 2020; Smith et al., 2013). Además, se ha demostrado que tanto la MOP como los sedimentos en suspensión presentes en arroyos favorecen la lixiviación de MOD, que en algunos casos suele ser rica en nitrógeno (fuente de NOD) (Xia et al., 2013; Yoshimura et al., 2010). Por otro lado, la MOD está fuertemente asociada al ciclo del N, ya que las sustancias orgánicas tanto húmicas como no-húmicas pueden contener diferente número de átomos de N en su estructura (p.e. proteínas), conformando así la fracción de NOD (Bronk et al., 2007).

En varios lagos profundos del hemisferio norte se ha registrado acumulación de nitratos en el hipolimnion (Beutel et al., 2018; Clevinger et al., 2014; Finlay et al., 2007; Herber et al., 2020; Kim et al., 2006; Small et al., 2013). En el caso del lago Biwa en Japón, se ha demostrado que la fuente de MOD y de NOD en el hipolimnion proviene de la mezcla convectiva producida durante el invierno a partir de la materia orgánica acumulada en los estratos superficiales durante el verano (Kim et al., 2006). Sin embargo, los autores aclaran que este mecanismo de provisión de MOD al hipolimnion depende entre otros factores, del estado trófico y de la hidrología de las cuencas, y que es una hipótesis que debería probarse en otros lagos. En particular, el lago Biwa era originalmente oligotrófico, pero en las últimas décadas ha presentado signos de eutrofización y consecuente aumento de su producción primaria (Kim et

al., 2006). En el caso del lago Superior en Norteamérica, se viene registrando en las últimas décadas un aumento sostenido de las concentraciones hipolimnéticas de NO_3 (Finlay et al., 2007). Originalmente se atribuyó este fenómeno a la deposición atmosférica directa (dominada por NO_3) porque se vio que equiparaba a los ingresos de N desde la cuenca (dominados por NOD). Sin embargo, nuevas evidencias hicieron pensar que las razones son más complejas de lo que se suponía con anterioridad, incluyendo cambios en el ciclo de N dentro del lago, como un aumento en las tasas de nitrificación (Small et al., 2013). No obstante, dada la extremadamente baja productividad del lago se sabe que el mecanismo descrito para el lago Biwa no se produce (Small et al., 2013). Otro caso de nitrificación hipolimnética se ha registrado en el lago Tahoe (California) (Beutel et al., 2018). Estos autores pudieron determinar que la nitrificación biológica se produce a partir del NOD liberado de los detritos y del material en suspensión que sedimenta en los estratos profundos de la columna de agua.

Con estos procesos en mente, en los lagos Moreno existen evidencias de que el NOD necesario para la nitrificación hipolimnética procedería en gran medida de la cuenca de drenaje. En particular, Perakis y Hedin (2002) demostraron que la mayor pérdida de N de los bosques templados de Sudamérica se produce a través de la exportación de NOD. En este sentido, resulta relevante resaltar cómo es la cuenca que rodea a los lagos ME y MO. En particular, las cabeceras de las cuencas de estos lagos -como se mencionase en el **Capítulo I, Área de Estudio**- se encuentran conformadas mayoritariamente por árboles del género *Nothofagus* y los bosques de este género son los principales proveedores de materia orgánica alóctona, y *N. pumilio* (lenga), en particular, es una importante fuente de detritos a lo largo de todo el año (Modenutti et al., 2015). Considerando la baja o nula deposición atmosférica de N en estas cuencas debido a causas antrópicas (Vivanco & Austin, 2019, entre otros), y a que los lagos Moreno tienen una baja producción primaria (Callieri et al., 2007; Villafañe et al. 2004),

convertiría a los detritos de origen alóctono en la fuente clave para el mantenimiento del ciclo del nitrógeno en estos ecosistemas lacustres andinos.

En un estudio específico y estacional llevado a cabo en los arroyos tributarios de los lagos Moreno, Garcia et al. (2015) demostraron la magnitud en que las cuencas forestadas actúan como fuente de material alóctono, y que el ingreso de este material a los lagos está regulado por el régimen de precipitaciones. De hecho, observaron que los eventos de lluvia fueron seguidos rápidamente por el aumento de los caudales, y también de las concentraciones de STS, COD, TN y TP reflejando el aporte de material terrestre por la escorrentía. Además, registraron que en los períodos de lluvias intensas y con mayor escorrentía, los valores promedio de los aportes aumentaron 40, 20, 15 y 25 veces en STS, COD, TN y TP, respectivamente. La calidad de la MOD durante los períodos de lluvias fue mayormente húmica, aromática con alto contenido de lignina y de alto peso molecular. Luego, durante la primavera los caudales continuaron altos debido al deshielo, aunque se observó un cambio en la calidad de la MOD, siendo dominada por moléculas no húmicas y de menor tamaño molecular. Por su parte, en el verano (época seca) los caudales y los aportes se registraron en su línea de base (Garcia et al., 2015).

Esta dinámica estacional en los ingresos alóctonos se vio reflejada en los lagos Moreno. Fue posible determinar que el régimen de precipitaciones ejerció una influencia decisiva sobre el ingreso de STS y de la calidad de la MOD. En cuanto a los STS (estimados en esta Tesis como ad_{435}) se observaron mayores valores durante el invierno, y más en ME que en MO. Durante el otoño y el invierno se registraron valores más altos de las variables de absorción del COD cromóforo: a_{440} , SUVA, a^*_{350} y más bajos de la pendiente espectral ($S_{275-295}$) en toda la columna de ambos lagos (Figura II.10). De acuerdo con lo señalado por diversos autores (Carpenter et al., 2005; Fichot & Benner, 2002; Helms et al., 2008; Weishaar et al., 2003), la dinámica observada de estas variables indica un mayor color en el agua y una MOD con mayor

aromaticidad, contenido de lignina y tamaño molecular. Sin embargo, durante la primavera, los valores de a_{440} , SUVA, a^*_{350} disminuyeron posiblemente debido a la dilución causada por el aumento del nivel del agua debido a la acción conjunta de las lluvias y el deshielo. Este efecto de dilución/concentración ha sido descrito previamente en este sistema de estudio (Queimaliños et al., 2012), como en numerosos estudios del hemisferio norte (Anderson & Stedmon, 2007; Kellerman et al., 2015; Kothawala et al., 2014).

Por otro lado, se observaron diferencias en la concentración del COD y en la calidad de la MOD en los perfiles verticales de ambos lagos durante los períodos de estratificación. En los estratos superiores prevaleció la MOD de menor tamaño molecular y de carácter no húmico, asociada a concentraciones relativamente más altas de COD (Figuras II.9A y II.11), mientras que en el hipolimnion la MOD fue de mayor tamaño molecular y de carácter húmico (mayores concentraciones de C1 y C2), acompañadas por menores concentraciones de COD (Figuras II.9A, y II.11). Esto refleja que la MOD está expuesta a diferentes procesos de degradación en las diferentes “masas de agua” verticales, la fotodegradación en las “masas eufóticas” (estrato superior y medio) y a la degradación microbiana en las “masas hipolimnéticas” (estrato inferior).

Durante los períodos estivales, la mayor irradiancia solar expone a los estratos epilimnéticos (estrato superior y medio) de los lagos andino-patagónicos a una mayor incidencia de radiación solar y en especial de la ultravioleta (RUV) (Zagarese et al., 2001). Esta RUV es la responsable de la fotodegradación de la MOD, que conduce a una disminución de su tamaño molecular (Fichot & Benner, 2012; Zagarese et al., 2001).

Por otra parte, en relación con la humificación de la MOD en los estratos hipolimnéticos, los índices de humificación (HIX) y de MOD recientemente producida (BIX), mostraron en ambos lagos un patrón similar en el estrato inferior, con valores más altos de HIX, especialmente durante la primavera y el verano. En general, los estratos inferiores que corresponden al

hipolimnion no están sujetos a procesos de fotodegradación, muestran una mayor interacción con los sedimentos, lo que favorece los procesos de humificación de la MOD (Huguet et al., 2009). Por otra parte, los valores promedio del índice BIX se mantuvieron por encima de 0,6 y por debajo de 1 en todos los estratos y en ambos lagos. Valores altos de BIX ($>0,8$) indican un origen predominantemente autóctono de la MOD, mientras que valores bajos de BIX (menores a 0,6) sugieren una producción de MOD alóctona, mientras que los valores entre 0,6 y 0,8 indican una producción de MOD sujeta a un origen mixto entre autóctono y alóctono (Birdwell & Engel, 2010; Huguet et al., 2009). En este sentido, los índices obtenidos en los lagos Moreno Este y Moreno Oeste reflejarían el resultado del procesamiento interno de la MOD alóctona. Este proceso de humificación de la MOD en el hipolimnion se dio de manera simultánea con la nitrificación, y a su vez, estuvieron acompañados por la disminución en la concentración del OD, llegando a valores de 60-70% de saturación al final de la estratificación en los dos lagos. Aunque las concentraciones de OD no pueden considerarse como hipóxicas, porque estas se encuentran por encima de los 4 mg L^{-1} (Wetzel, 2001), sí es llamativa la pérdida de oxígeno hipolimnético, que en gran medida podría ser atribuible a la nitrificación (Figura II.17C).

En asociación con la nitraclina descrita en este trabajo, los máximos profundos de clorofila a (DCM) que se evidenciaron en el estrato medio de ambos lagos (Figura II.8), podrían explicarse por una mayor disponibilidad de N, y una incidencia lumínica adecuada, incluso en las capas superiores del estrato inferior, reflejado en los cocientes de $Z_{\text{mix}}:Z_{\text{eu}}$ que fueron bastante menores a 1 en este período. Resultados similares han sido observados en diversos lagos profundos y transparentes del mundo (p.e. Saros et al., 2015).

Ahora bien, al producirse la mixis invernal, las concentraciones de OD fueron máximas (Figura II.5) en asociación al mayor ingreso de agua de parte de los arroyos, resaltando que en ese período son aguas muy frías (implicando una mayor solubilidad del oxígeno). Sin embargo, lo más destacable es que el aporte de nutrientes desde las capas profundas hacia las capas

superficiales durante la mezcla convectiva tuvo una clara relación con el aumento de la clorofila *a* en ese período en prácticamente toda la columna de agua (Figura II.8), evidenciando aún más el grado de limitación por nutrientes en los lagos estudiados. Ciertas relaciones de nutrientes, como la de NID:PT sirven para conocer cómo es el escenario para el fitoplancton. En este caso, los cocientes de NID:PT fueron altos (mayores a los reportados por Bergström (2010) (Figura II.20), indicando un desequilibrio estequiométrico y en consecuencia la posible limitación de fósforo en los lagos estudiados. Estos resultados, además, se encuentran respaldados por los resultados de los PCA, donde se observa que incluso frecuentemente puede ocurrir una co-limitación de fósforo y de nitrógeno, modulando la biomasa de clorofila (Figuras II.23 y II.24). En cambio, resulta también interesante que en ningún caso se encontraron concentraciones limitantes de SiO₂, si se toma como referencia los valores indicados para este nutriente en una investigación a escala global de sistemas de agua dulce (Markert et al., 1997).

En líneas generales, las variables analizadas en este Capítulo fluctuaron de una manera sincrónica entre ambos lagos ($p < 0,05$). Esto no implica que hayan sido iguales entre sí (de hecho, fueron mayores o menores), sino que su variabilidad se produce de manera sincrónica. En este sentido, la sincronía indica que al menos algún factor externo de alcance regional se encuentra afectando de manera similar a ambos cuerpos de agua. Esto ha sido observado previamente en numerosos estudios (Baines et al., 2000; Kling et al., 2000; Pace & Cole, 2002, entre otros). La excepción se registró en los casos del NH₄, SiO₂, BIX, y C3:COD. Además, durante el período de estudio, entre el 67 y 76% de las lluvias se concentró en la época de otoño-invierno (Figura II.2), en línea con la marcada estacionalidad climática de la región (Paruelo et al., 1998). En asociación con esto, prácticamente todos los parámetros estudiados siguieron un marcado patrón estacional, el cual fue especialmente visible en el OD y el NO₃, y se observó más marcadamente en el ME en comparación con el MO.

En función de descifrar cuáles son los factores que generan las diferencias de funcionamiento entre los lagos ME y MO, en primera instancia hay que tener en cuenta las diferencias morfométricas y de posición en el paisaje. En particular, la *relación dinámica* (RD) entre los lagos resultó ser distinta, indicando que el lago MO tiene un mayor predominio de procesos de erosión y de transporte de sedimentos causados por el viento, mientras que en el ME esta relación indica el predominio de los procesos de sedimentación de acuerdo con Håkanson (2002) y Seitz et al. (2020). Además, el lago ME está ubicado aguas arriba del MO recibiendo el material directamente de la cuenca a través de 3 arroyos de montaña, posee una forma cóncava ($DV = 1,90$) que también favorece los procesos de sedimentación, y tiene un mayor tiempo de residencia del agua que el MO (Tabla I.1). Considerando en conjunto con las características antes mencionadas, que los tiempos de residencia más altos conducen a un mayor procesamiento de sustancias disueltas (Wetzel, 2001), se puede sugerir que el ME funciona como una cuenca de decantación donde la materia orgánica que ingresa de la cuenca se procesa por primera vez en el hipolimnion por parte de bacterias nitrificantes durante al menos seis meses, tiempo que dura la estratificación. A su vez, por estar aguas abajo, el MO recibe los nutrientes más procesados. La variación del ad_{435} acompaña estos resultados dado que el ME presenta valores mayores de este parámetro, lo cual sustenta que actúa como cuenca de sedimentación, mientras que el flujo de agua que llega hacia el MO con materia más procesada, se evidencia en los menores valores de ad_{435} y mayores de COD. Incluso, en el PCA que incluye todos los datos (Figura II.22), el eje que separa a los lagos queda definido por una mayor concentración de material particulado en el ME, y mayor concentración de material disuelto en el MO. También, cabe destacar que el cociente de drenaje (relación entre las superficies de la cuenca y de los lagos) es moderadamente alto en el caso de los lagos Moreno (aproximadamente 20), pero la diferencia entre ambos lagos radica en que el %Agua (porcentaje de la superficie de la cuenca ocupada por sistemas lacustres) es un orden de

magnitud mayor en el MO en comparación con el ME (Tabla I.1). De esta manera, queda enfatizado que considerar la posición de los lagos en el paisaje, además de su conectividad, es fundamental para comprender su funcionamiento, tal como fuera expresado en otras investigaciones (Martin & Soranno, 2006; Soranno et al., 2017).

Otro de los resultados relevantes de esta Tesis es que si bien se conoce que ambos lagos se estratifican hacia finales de la primavera y permanecen así hasta finales del otoño, la dinámica de la mixis y de la estratificación térmica es diferente entre los lagos. En particular, al analizar el índice de estabilidad térmica de Schmidt (SSI), resulta evidente que el lago ME precisa mucha más energía para producir la mixis que el lago MO (Figura II.4 A y B). Esta diferencia entre los lagos puede implicar que exista un desfase temporal con respecto a cuándo se produce la mixis en ambos lagos, simplemente porque el volumen de agua a mezclar es el doble en el ME respecto del MO, y ambos lagos están expuestos a las mismas condiciones meteorológicas (intensidad del viento, temperatura del aire) por ser vecinos. En cuanto al establecimiento de la estratificación, se observó una diferencia entre los perfiles térmicos de ambos lagos en la primavera tardía, ya que mientras que en el ME hubo un gradiente térmico (Figura II. 3A y B), en el MO las masas de agua se encontraron prácticamente estratificadas. En línea con las dinámicas diferenciales observadas en los lagos Moreno, Yu et al. (2010) demostraron que la fuerza de la estratificación térmica determina en gran parte una estratificación química y que índices como el SSI son útiles para evaluar la fuerza de la estratificación física, y determinar el estado y las características físicas en los lagos.

Los resultados de este Capítulo comprueban las hipótesis y las predicciones planteadas. En este contexto, las diferencias de los lagos Moreno en sus variables HGM junto con las diferencias en la relación con las cuencas hidrográficas, su conectividad y especialmente su posición en el paisaje, afectan en forma conjunta y decisiva al funcionamiento de estos lagos.

II.5 Anexo M&M

[Volver a M&M](#)

Espectros de emisión

Índice biológico o de MOD recientemente originada (BIX)

El BIX (sigla de *Biological Index*) es calculado como el cociente entre las emisiones a 380 nm y 430 nm a una excitación fija de 310 nm (Huguet et al., 2009). Los valores de BIX entre 0,8 y 1 corresponden a MOD de origen microbiano producida recientemente, mientras que valores por debajo de 0,6 se consideran con poco material autóctono.

Índice de Humificación (HIX)

El índice de humificación HIX (de su sigla en inglés), se calcula como el cociente entre la integral de dos regiones del espectro de emisión (suma desde Em 435–480 nm dividida por la suma de Em 300–345 nm + Em 435–480 nm) tomadas a una excitación de 254 nm. El grado de humificación de la MOD también es un indicador de la edad de la MOD dentro de un sistema natural y de cuán recalcitrante es (Zsolnay et al., 1999; Ohno, 2002). Sustancias altamente humificadas son generalmente resistentes a la degradación, y se espera que sean más persistentes en el ambiente. Los valores de HIX varían de 0-1 de acuerdo con su menor o mayor grado de humificación (Ohno 2002), y generalmente este valor se incrementa con el grado de descomposición (Wickland et al., 2007). El índice HIX está fuertemente correlacionado con la MOD aromática, e inversamente correlacionado con el contenido de carbohidratos (Kalbitz et al., 2003).

Matrices de Excitación-Emisión

Las matrices de Excitación-Emisión (EEMs) revelan la fluorescencia de la MOD como superficies topográficas de la luz emitida en función de la longitud de onda de la excitación, y constituyen la aproximación más ampliamente utilizada para estudiar la fracción fluorescente

de la MOD porque captan cómo la excitación y la emisión de las sustancias fluorescentes varían con la composición de la MOD (Coble, 1996; Stedmon & Bro, 2008; Aiken, 2014).

Durante la última década, las EEMs se están utilizando en el análisis de las sustancias que componen la MOD, y constituyen el estado del arte en la metodología referida a los análisis de la calidad de la MOD en sistemas acuáticos (Stedmon & Bro, 2008). La información que brindan cada uno de los espectros que componen la matriz es analizada mediante la aplicación de métodos estadísticos multivariados, más específicamente el denominado PARAFAC (análisis de factores paralelos). De esta manera se identifican los componentes dominantes de la MOD en cada uno de los casos de acuerdo con las “coordenadas” de Excitación y Emisión, y hasta la fecha se han publicado numerosos trabajos en los que se los relacionaba con moléculas proteicas, fúlvicas y/o húmicas (Cory & McKnight, 2005). En un comienzo esta clasificación de las moléculas era asignada en forma directa a su origen: autóctono, señalado por la presencia de moléculas proteicas, y alóctono por la presencia de sustancias húmicas. Sin embargo, en la actualidad se reconoce que existen sustancias proteicas de origen alóctono, y sustancias húmicas generadas internamente en los sistemas acuáticos (Mostofa et al., 2013; Aiken, 2014).

Por otra parte, muy recientemente se han comenzado a analizar en forma conjunta las propiedades fluorescentes de las moléculas orgánicas con las determinaciones realizadas a través de espectrometría de masas de resonancia ciclotrónica de iones con transformada de Fourier (FT-ICR-MS), que permite conocer en detalle la composición molecular de la MOD (Herszprung et al., 2012; Kellerman et al., 2015). Gracias a este análisis conjunto, hoy es posible asignarle una composición química más precisa a los fluoróforos dominantes en los ambientes acuáticos.

Esto potencia aún más la utilidad de la fluorescencia teniendo en cuenta su rapidez y relativo bajo costo de obtención en relación con la aproximación analítica sofisticada de la

espectrometría de masas. De hecho, el uso de las EEMs sigue siendo muy valioso a la hora de analizar los cambios que se producen en la MOD a lo largo del tiempo como resultado de diversos procesos, ya que al ser una “huella digital” de la MOD permite saber si cambió su estructura a lo largo del mismo.

Obtención de las EEMs

Las matrices fueron obtenidas en un rango de excitación de 240-450 nm a intervalos de 5 nm y un rango de emisión de 300-600 nm a intervalos de 0,5 nm a una velocidad de escaneo de 1500 nm min⁻¹, en base a 43 escaneos por matriz (método modificado a partir de Murphy et al., 2010). Adicionalmente, las muestras de absorbancia medidas concurrentemente (ver Metodología de MODC), fueron utilizadas a fin de realizar la corrección debida al efecto de filtro interno (en inglés, *inner filter effect*). Las matrices fueron procesadas con el programa FL-WinLab® (Perkin-Elmer). Además, las matrices fueron corregidas por valores instrumentales indicados por el fabricante, y se realizó la resta del blanco (agua MilliQ). Finalmente, los datos fueron expresados en RU, normalizados por el área delimitada por el espectro Raman medido sobre una muestra de agua MilliQ a una excitación de 350 nm usando la herramienta Fdomcorr de MATLAB (Murphy et al., 2010).

Análisis de Factores Paralelos (PARAFAC)

Las matrices de excitación emisión fueron evaluadas a través de análisis de factores paralelos (PARAFAC, sigla en inglés de *Parallel Factor Analysis*), el cual provee información sobre el número, el tipo y la abundancia de los fluoróforos en cada muestra de MOD natural. El modelado PARAFAC consiste en una descomposición trilinear en componentes de fluorescencia independientes (Stedmon et al., 2003; Murphy et al., 2014). Cada uno de estos componentes puede comprender 1 o más fluoróforos.

El análisis PARAFAC incluyó 120 matrices obtenidas a través de los análisis de espectroscopia de fluorescencia realizados a las muestras de los lagos. Todas las matrices se corrigieron con

el programa drEEM (MATLAB®R2017, The Natick, EE. UU.) (Murphy et al., 2013) y las dispersiones Raman y Raleigh se eliminaron del análisis. Posteriormente, se ejecutó un análisis exploratorio para identificar valores atípicos, aplicando una restricción no negativa. Las muestras identificadas como valores atípicos (leverage = 0,5) debido a errores del instrumento, artefactos o discrepancias inusuales con otras muestras, fueron eliminadas del conjunto de datos. El número de componentes discriminados por el PARAFAC se validó utilizando el diagnóstico de consistencia del núcleo (Bro & Kiers, 2003), mediante un análisis de mitades divididas (S4C6T3) y aplicando 10 inicializaciones aleatorias (Murphy et al., 2013). Finalmente, los valores de excitación y emisión obtenidos se utilizaron para determinar la intensidad máxima de los componentes en sus picos de excitación y emisión (Fmax) (Murphy et al., 2013). Las intensidades de fluorescencia relativas de los componentes se expresaron como valores normalizados por la concentración de COD. Los componentes validados por PARAFAC se compararon con los componentes publicados e incluidos en la base de datos Openfluor (Murphy et al., 2014).

[Volver a M&M](#)

II.5.1 Bibliografía Anexo

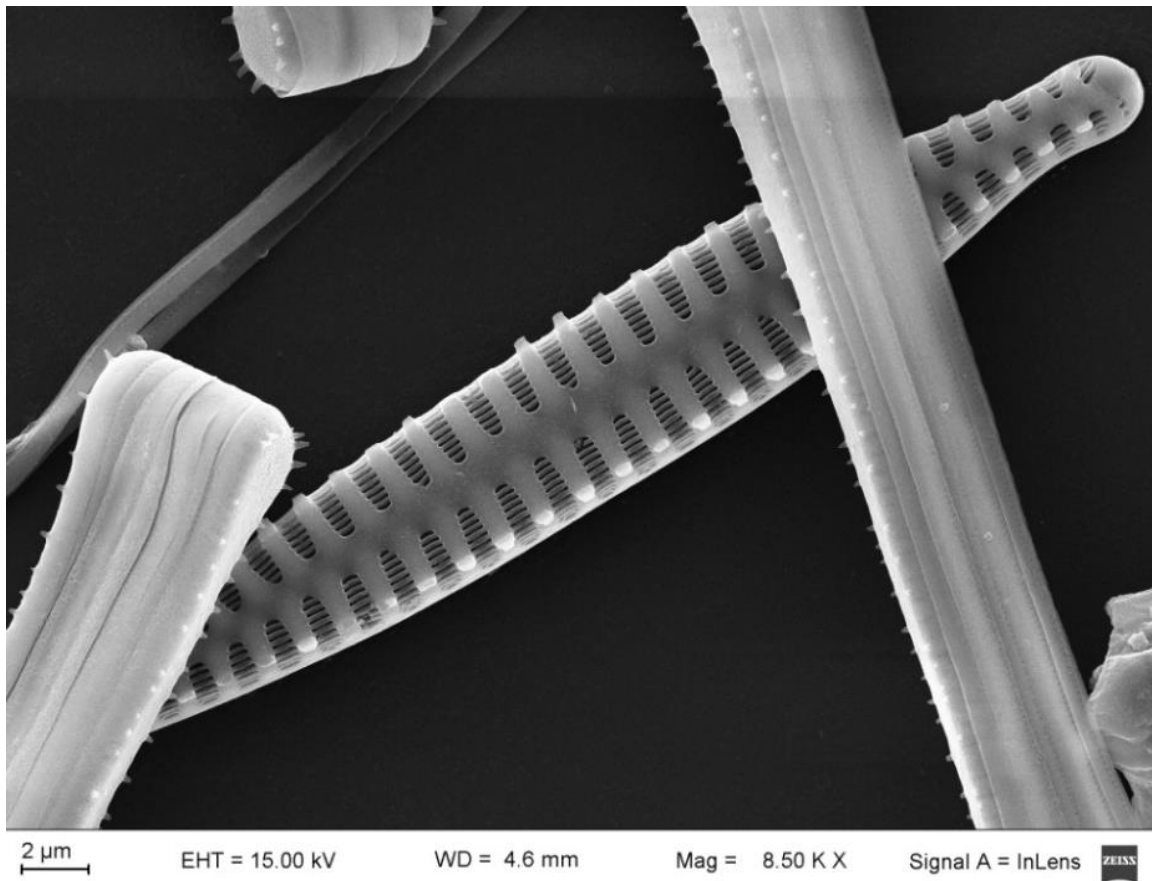
- Aiken, G.R., 2014. Fluorescence and Dissolved Organic Matter: A Chemist's Perspective. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. M. Reynolds, & R. G. M. Spencer (Eds.), Aquatic Organic Matter Fluorescence (pp. 35–74). New York: Cambridge University Press.
- Bro, R., & Kiers, H.A., 2003. A new efficient method for determining the number of components in PARAFAC models. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society* 17(5): 274-286.
- Coble, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51(4): 325-346.
- Cory, R.M., & McKnight, D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* 39(21): 8142-8149.
- Herzsprung, P., von Tümpling, W., Hertkorn, N., Harir, M., Büttner, O., Bravidor, J., Frieze, K., & Schmitt-Kopplin, P., 2012. Variations of DOM quality in inflows of a drinking water

reservoir: linking of van Krevelen diagrams with EEMF spectra by rank correlation. *Environmental Science & Technology* 46(10): 5511-5518.

- Huguet, A., Vacher, L., Relexans, S., Saubusse, S., Froidefond, J.M., & Parlanti, E. 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40: 706–719.
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D., & Matzner, E. 2003. Biodegradation of oil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma* 113: 273–291.
- Kellerman, A.M., Kothawala, D.N., Dittmar, T., & Tranvik, L.J., 2015. Persistence of dissolved organic matter in lakes related to its molecular characteristics. *Nature Geoscience* 8: 454–457.
- Mostofa, K.M.G., Liu, C.Q., Minakata, D., & Wu, F., 2013. Photoinduced and microbial degradation of dissolved organic matter in natural waters. En: *Photobiogeochemistry of Organic Matter: Principles and Practices in Water Environments*, Mostofa, K.M.G., Yoshioka, T., Mottaleb, M.A., & Vione, D. (Eds), pp. 273–364.
- Murphy, K. R., Butler, K., Spencer, R. M., Stedmon, C. A., Boehme, J., & Aiken, G.R., 2010. Measurement of dissolved organic matter fluorescence in aquatic environments: An interlaboratory comparison. *Environmental Science and Technology* 44: 9405–9412.
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Graeber, D., & Bro, R., 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. *PARAFAC. Analytical Methods*: 5: 6557–6566.
- Murphy, K.R., Stedmon, C.A., Wenig, P., & Bro, R., 2014. OpenFluor—An online spectral library of auto-fluorescence by organic compounds in the environment. *Analytical Methods* 6: 658–661.
- Ohno, T. 2002. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology* 36: 742–746.
- Stedmon, C.A., & Bro, R. 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods* 6: 572–579.
- Stedmon, C.A., Markager, S., & Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry* 82(3): 239-254.
- Wickland, K.P., Neff, J.C. & Aiken, G.R., 2007. Dissolved organic carbon in Alaskan boreal forest: sources, chemical characteristics, and biodegradability. *Ecosystems* (N Y, Print) 10: 1323–1340. doi:10.1007/s10021-007-9101-4.
- Zsolnay, Á., Baigar, E., Jimenez, M., Steinweg, B., & Saccomandi, F., 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38: 45–50

CAPÍTULO III

El Fitoplancton



III.1 Introducción

La importancia del fitoplancton en los ecosistemas acuáticos resulta innegable por múltiples razones. Entre las se pueden destacar que son responsables de casi la mitad de la producción primaria de la biosfera (Field et al., 1998), cumplen un rol crucial en la fijación de carbono y la producción de oxígeno (Falkowski, 1994; Sabine et al., 2004), y al formar la base de las cadenas tróficas acuáticas afectan la abundancia y diversidad de otros organismos acuáticos, sustentando el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos. El fitoplancton es un grupo muy diverso y está compuesto por organismos fotosintéticos unicelulares y coloniales con un amplio espectro de formas y tamaños como resultado de una selección adaptativa dirigida a maximizar las posibilidades de sobrevivir en condiciones ambientales variables (Naselli-Flores & Barone, 2011). Debido a su alta sensibilidad a los cambios ambientales, y a que se encuentran conformadas por diversas especies con diferentes características ecofisiológicas, morfológicas, de requerimientos de recursos, tasas de crecimiento y velocidades de sedimentación (Hutchinson, 1957; Reynolds, 2006; Tilman, 1977), el fitoplancton puede responder rápidamente a los cambios internos y externos de un ecosistema (Hu et al., 2015; Reynolds, 2007). Esta característica los convierte en indicadores críticos para detectar la ocurrencia de cambios en los lagos (Reynolds et al., 1993) y el paisaje circundante (cuenca y atmósfera). Por lo tanto, modificaciones en la estructura de estas comunidades, como en las fracciones de tamaño, la composición de las especies y la abundancia, pueden entenderse como estrategias en respuesta a los cambios ambientales (Reynolds, 1988).

Entre los factores que pueden causar variaciones temporales en la composición de las especies, la heterogeneidad ambiental desempeña un papel importante (Veech & Crist, 2007) e incluye las diferencias espaciales en las características ambientales (p.e. los gradientes tróficos entre los lagos) y los cambios temporales en estas características ambientales (p.e. la amplitud de las diferencias estacionales de temperatura entre los lagos) (O'Reilly et al., 2015). En particular, la

estructura térmica y la mezcla vertical de la columna de agua es una de las variables clave para el desarrollo de la comunidad fitoplanctónica, ya que los procesos de estratificación y mezcla suelen ser determinantes de la disponibilidad de recursos como la luz y los nutrientes (abordado en el Capítulo II). Así, por ejemplo, Winder & Hunter (2008) resaltaron que en el lago Tahoe la periodicidad estacional de los ensambles fitoplanctónicos se encuentra asociada a variaciones estacionales en las fuerzas físicas que controlan la dinámica de mezcla. En consecuencia, la magnitud de la respuesta expresada en la biomasa de los diferentes grupos algales proporciona información sensible sobre las condiciones medioambientales (Costa et al., 2009), ya que la biomasa total de una comunidad está muy relacionada con los recursos, la composición y competencia entre especies (Sommer et al., 2012).

Los factores ambientales alteran la abundancia total y relativa de las especies y, por lo tanto, afectan a los parámetros comunitarios de las mismas (Adrian et al., 2006; Hillebrand et al., 2008; Wagner & Adrian, 2011; Wilhelm & Adrian, 2008). Una amplia variedad de tipos de métricas taxonómicas y funcionales comúnmente registradas, como la biomasa, la abundancia, la riqueza taxonómica y distintos índices (como la diversidad de Shannon, la diversidad de Simpson y la equitatividad), pueden utilizarse para evaluar los efectos ecológicos de los cambios ambientales e incluso de los impulsores del cambio climático global en los ecosistemas lacustres. Cada uno de estos tipos de métricas pueden ser altamente relevantes para captar las diferentes respuestas de la comunidad a los cambios ambientales proporcionando información única sobre las condiciones del ecosistema (Gallardo et al., 2011; Gascon et al., 2009; Heino et al., 2007; Mouillot et al., 2006; Özkundakci et al., 2016).

Por otra parte, el uso de diferentes estrategias de supervivencia por parte del fitoplancton es un hecho bien conocido. Muchas especies pueden asimilar fósforo de manera más eficiente que otras, y como resultado, las poblaciones con atributos diferentes pueden utilizar estas estrategias según las condiciones ambientales, lo que lleva a la persistencia de algunas especies

mientras que otras pueden disminuir o desaparecer (Reynolds, 1998). La selección de especies depende de numerosos factores como diferencias específicas de cada especie, la asimilación y la capacidad de almacenamiento de nutrientes (Sommer, 1989; Tilman et al., 1982). Tradicionalmente, el fitoplancton se ha estudiado considerando los cambios en la biomasa total (generalmente utilizando como proxy la concentración de clorofila a), sin embargo, este enfoque no necesariamente refleja el estado de esta importante comunidad (Kasprzak et al., 2008).

La coexistencia de diversas especies requiere inevitablemente compensaciones en determinados rasgos que determinan sus respuestas al medio ambiente (Tilman, 1982). En este sentido, la clasificación de los organismos en grupos funcionales ayuda a la investigación ecológica al agrupar organismos (independientemente de su origen filogenético) que interactúan con factores ambientales de manera similar. Para analizar la composición fitoplanctónica de estos lagos se aplicó el enfoque tradicional (taxonómico) y el de grupos funcionales siguiendo las clasificaciones de Mitra et al (2016), Reynolds et al. (2002) revisado por Padisák et al. (2009). Este enfoque que se basa en los atributos fisiológicos, morfológicos y ecológicos de las especies, ha demostrado ser una forma eficaz de analizar los cambios estacionales en la dinámica del fitoplancton (Salmaso et al., 2015).

Los grupos funcionales de protistas suelen dividirse simplemente en "fitoplancton" (fotótrofos) y "microzooplancton" (fagótrofos); los primeros suelen incluir fotoautótrofos, mientras que los últimos representan fagoheterótrofos (p.e. Baretta et al., 1995; Fasham et al., 1990; Plagányi 2007). Sin embargo, cada vez se reconoce más que muchos "fitoplancton" y "microzooplancton" de la zona fótica son, de hecho, mixótrofos. Estos, pueden combinar modos de nutrición fotoautótrofa y fagotrófica (Mitra et al., 2016). Una amplia variedad de fitoplancton ingiere presas, mientras que varias especies del microzooplancton retienen cloroplastos de sus presas o albergan endosimbiontes fotosintéticos, y así contribuyen a la

producción primaria. Además, muchas especies, al participar en actividades mixótrofas, pueden lograr un crecimiento más rápido que cuando están en modo fotoautótrofo o fagoheterótrofo solamente (p.e. Adolf et al., 2006; Burkholder et al., 2008; Glibert et al., 2009; Jeong et al., 2010).

Por otro lado, para conocer la estructura y la dinámica del fitoplancton en los lagos profundos se ha visto que los muestreos de superficie, especialmente durante los períodos de estratificación (primavera-verano-otoño), sólo proporciona un resultado parcial a escala espacial y temporal (Sevindik et al., 2017). Además, diversos estudios han registrado el desarrollo del fitoplancton en profundidad, aún en capas hipolimnéticas (p.e. Saros et al., 2015), siendo entonces relevante el estudio de la comunidad en los distintos estratos y durante el ciclo anual completo.

Los análisis desarrollados en el presente Capítulo se enfocaron en describir la estructura de las comunidades del fitoplancton y su sucesión. A partir del estudio de la variación estacional del fitoplancton se pueden detectar cambios regulares y periódicos que se repiten en una escala temporal anual y de esta forma dilucidar los posibles *drivers* que dan forma a esta comunidad. El modelo de sucesión en un lago puede observarse en cambios estacionales en la biomasa y la composición de especies del plancton (Lampert & Sommer, 2007). En particular, se ha descrito al cambio del estado de "agotamiento de nutrientes-luz alta" al estado de "más nutrientes-menos luz" como una compensación de las necesidades de crecimiento de las algas y como uno de los principales impulsores de los cambios en la comunidad fitoplanctónica de los grandes lagos (Hecky & Kling, 1981, 1987). Además de estos cambios de origen físico y químico, factores como el pastoreo del zooplancton pueden ejercer presión sobre el fitoplancton. Incluso, el microzooplancton que se alimenta de fitoplancton pequeño también puede presentar grandes variaciones en su abundancia, tanto espacial como temporalmente (Tarbe, 2010). Por lo tanto,

la estructura y la abundancia del fitoplancton también se ven afectadas por las interacciones bióticas, en mayor o menor medida.

Entre los parámetros que resultan más relevantes a la hora de estudiar la sucesión fitoplanctónica en nuestra región, se destaca la gran variabilidad climática estacional que hace que el vínculo de los cuerpos de agua con su cuenca hidrográfica no solo sea muy fuerte, sino que muy cambiante entre las estaciones. Al patrón estacional debe sumarse la oligotrofia de los lagos de esta región. Los lagos andino-patagónicos profundos tienen una muy alta transparencia (rango K_{dPAR} 0.09 - 0.22 m^{-1}) y muy bajas concentraciones de clorofila *a* (rango 0.2 -1.4 $\mu g L^{-1}$) (Pérez et al., 2007). Además, es frecuente en el epilimnion la presencia del ciliado mixotrófico *Stentor araucanus*, y el desarrollo de máximos profundos de clorofila (DCM, por su sigla en inglés) durante los períodos de estratificación. Estos DCM están principalmente constituidos por organismos fotótrofos, que incluyen desde dinoflagelados como *Gymnodinium paradoxum* a ciliados mixotróficos como *Ophrydium naumanni* Pejler (Modenutti, 1997; Modenutti et al., 2000; Queimaliños et al., 1999). En particular, los dinoflagelados del género *Gymnodinium* pueden dominar el biovolumen fitoplanctónico de estos lagos (Queimaliños et al., 2002).

En comparación con los estudios sobre el ciclo de los nutrientes y la evolución de la comunidad fitoplanctónica en lagos profundos del hemisferio norte (p.e. Rossknecht, 1977; Stabel, 1986; Salmaso et al., 2003), existen pocos trabajos que estudien específicamente los factores que influyen en la dinámica espacio-temporal de la comunidad fitoplanctónica (su fenología y sucesión estacional) en los lagos profundos templados del hemisferio sur. Así mismo, hasta la actualidad se ha prestado poca atención a la sucesión de los grupos funcionales del fitoplancton y su relación con las variables ambientales, las características morfométricas, físicas y químicas de estos lagos australes de manera integral. Es por esta razón, que comprender y explicar la

estructura y dinámica de estas comunidades algales es de gran relevancia para ampliar el conocimiento que se tiene sobre el funcionamiento de estos sistemas únicos en el mundo. En este contexto, con el objetivo de sumar conocimientos sobre el funcionamiento ecosistémico de los lagos andino-patagónicos, el análisis detallado de la comunidad fitoplanctónica se realizó para toda la columna de agua y durante un período de 17 meses (incluyendo así el período estacional completo).

En particular, tanto el epilimnion, como el metalimnion suelen abarcarse en los estudios del fitoplancton ya que corresponden a las zonas iluminadas, y resultan más fáciles de monitorear. Mientras que, el hipolimnion, suelen extenderse mucho más del 1% de incidencia de luz y presentar un comportamiento más complejo y diferente a las capas superficiales dado su aislamiento (Gerten & Adrian, 2001).

III.1.1 Objetivos

El objetivo principal de este Capítulo fue estudiar la dinámica y cambios en la estructura de la comunidad fitoplanctónica incluyendo la totalidad de la columna de agua y la variación estacional en dos lagos profundos y oligotróficos vecinos con características físicas y químicas similares e importantes diferencias hidrogeomórficas. El análisis se llevó a cabo desde los puntos de vista taxonómico y de grupos funcionales.

El segundo objetivo de este Capítulo es evaluar la influencia de las condiciones ambientales sobre la composición específica y la abundancia del fitoplancton, sobre la dinámica de biomasa de grupos funcionales y los distintos parámetros comunitarios. Para esto se analizó la sucesión estacional dentro de toda la columna de agua en conjunto con variables ambientales utilizando análisis multiparamétricos.

Para estos objetivos se plantearon las siguientes hipótesis:

III.1.2 Hipótesis

Hipótesis III.1: La comunidad fotótrofa presenta diferencias en cuanto a su biomasa total durante diferentes períodos hidrológicos y en ambos lagos, que están caracterizados por una distinta vinculación con la cuenca. Las diferencias se explican por el efecto conjunto de la disponibilidad de nutrientes orgánicos y del recurso lumínico.

***Predicción 1:** aunque ambos lagos son muy similares, dada su ubicación en el paisaje, el lago con mayor disponibilidad de nutrientes presentará una mayor biomasa total de organismos fotótrofos siendo esta mayor cuando hay más recursos disponibles.*

Hipótesis III.2: La estructura y la dinámica de la comunidad fotótrofa varía a lo largo del gradiente vertical en los lagos estudiados. Los diferentes grupos funcionales se distribuyen de manera diferencial en los estratos superior, medio e inferior de los lagos, reflejando adaptaciones específicas a las condiciones de luz, nutrientes y temperatura en cada estrato.

***Predicción 2:** Se observará una mayor diversidad de grupos funcionales en las capas superiores, donde la luz es abundante y los nutrientes están más disponibles. En las capas metalimnéticas, se espera una mayor presencia de grupos funcionales adaptados a condiciones de menor luz y mayor estabilidad por no estar expuestos a la mezcla superior. En las capas hipolimnéticas, se espera una menor diversidad de grupos funcionales debido a la limitación de luz y de nutrientes.*

Hipótesis III.3: La estructura y la dinámica de la comunidad fotótrofa variará a lo largo de los diferentes períodos hidrológicos entre los lagos. Existen diferencias en los ensambles comunitarios de grupos funcionales.

***Predicción 3:** Se observarán diferencias en la composición de los ensambles de grupos funcionales en los diferentes periodos estudiados en ambos lagos. Estas diferencias estarán asociadas con la estabilidad térmica distinta entre ambos lagos.*

III.2 Materiales y métodos

III.2.1 Obtención de las muestras

La obtención de las muestras se realizó de acuerdo con el protocolo detallado en el Capítulo II (ver sección II.2.3).

III.2.2 Análisis de la Comunidad Fitoplanctónica y de ciliados mixotróficos

Recuento del picoplancton autotrófico

La abundancia del picoplancton autotrófico (picocianobacterias y picoeucariotas) se determinó a través de citometría de flujo y recuentos bajo microscopio de epifluorescencia, complementando ambos métodos. Para el recuento por citometría de flujo, una alícuota de la muestra de cada profundidad y fecha fue fijada con 10% paraformaldehído + 0,5% glutaraldehído (1 + 0,05% concentración final, respectivamente), dejada en oscuridad por 10 minutos, luego congeladas y almacenadas a -80°C hasta su análisis. Las muestras se procesaron en un citómetro de flujo FACSCalibur (Becton & Dickinson Franklin Lakes, NJ, U.S.A.). Equipado con un láser azul de estado sólido (488 nm, >20 mW), un láser rojo de estado gaseoso (633 nm, >18 mW), 4 sensores de fluorescencia (FL1 a 4), 1 de dispersión frontal (*forward scatter*, FSC) y otro de dispersión lateral (*side scatter*, SSC), para registrar y posteriormente analizar los patrones formados a partir de los valores de SSC y FL3. Durante el pasaje por el citómetro se controló la velocidad de flujo de muestra de manera que no se superaran los 1200 eventos/seg, para evitar errores en el recuento posterior. En cada caso, una submuestra de 500 µl fue contada automáticamente con el citómetro de flujo por 5 minutos a flujo de muestra máximo $\sim 73 \mu\text{l min}^{-1}$. Se utilizó una alícuota de microesferas de látex de 1 µm-diámetro amarillo-verdoso fluorescentes (Polysciences Inc., Warrington, PA, U.S.A.) como un estándar interno. Los citogramas obtenidos fueron analizados a través de los patrones formados a partir

de los valores de SSC y FL3 (fluorescencia roja), siguiendo a Olson et al. (1993). El análisis de los datos fue realizado a través de FlowJo®.

Para el recuento bajo microscopio de epifluorescencia, un volumen entre 5 y 10 mL de cada muestra fue fijado con glutaraldehído al 1% (frío y filtrado a través de membranas de 0,22 µm Millipore). Luego, las muestras fijadas fueron filtradas a través de membranas de polycarbonato negras de 0,22 µm de poro (MSI). Todos los filtros fueron montados sobre portaobjetos con una gota de aceite de inmersión específico para epifluorescencia (Immersol 518 F) y almacenados a -20°C hasta su posterior recuento. Para la cuantificación de las células, las muestras fueron inspeccionadas a 1000× de magnificación utilizando un microscopio de epifluorescencia (Olympus BX50, Japón) equipado con una lámpara HBO 50W, y un filtro para excitación en luz azul (BP 420–480 nm, BA 515 nm) que permite la cuantificación de los organismos pigmentados debido a la autofluorescencia de la clorofila *a*. Bajo la excitación de esta luz, las picocianobacterias fluorescen con color amarillo, mientras que las picoeucariotas con color rojo.

Nano y microfitoplancton

Recuentos y determinación de la abundancia

La cuantificación del nano y del microfitoplancton (fracciones de 2-20 µm y 20-200 µm de máxima dimensión celular, respectivamente) se realizó según la técnica de Utermöhl (Utermöhl, 1958), y para ello se decantaron 50 mL de muestra. El tiempo de sedimentación se fijó según Lund et al. (1958) y los recuentos se realizaron bajo microscopio invertido (Olympus CKX41, Japón). El microfitoplancton se contabilizó contando media cámara con un aumento de 200x, mientras que para el nanofitoplancton se contabilizó a 400x y se estimó el error de los recuentos según Venrick (1978), aceptando un error máximo del 20% para las especies más abundantes. Se contabilizó el número de algas vivas, y se consideró como vivas a todas aquellas

que presentaban sus cloroplastos organizados (Padisák et al., 1999). La abundancia fue calculada como céls. mL⁻¹ para cada profundidad en el perfil vertical de agua por fecha.

Además, se contabilizaron los ciliados mixotróficos *Ophrydium naumanni* y *Stentor araucanus*. Para su cuantificación se siguió la misma técnica que para el recuento del microfitoplancton bajo microscopio invertido, por escaneo de la superficie completa de la cámara a 200×. El número de algas endosimbiontes dentro de los ciliados se estimó siguiendo el criterio de Woelfl & Geller (2002).

Cálculos de biovolumen y de biomasa

Para el cálculo del biovolumen se incluyeron las tres fracciones de tamaño, se aplicaron modelos basados en figuras geométricas adecuadas para cada taxón (Sun & Liu, 2003). Para ello se midieron al menos 30 células fitoplanctónicas por especie, y se multiplicó el volumen por el número de células mL⁻¹ obtenido. A partir de los datos cuantitativos de la composición específica se estimó la abundancia de células por mililitro y biomasa total expresada como µg L⁻¹, asumiendo una densidad específica de 1 (1000 µm³ mL⁻¹ = µg peso fresco L⁻¹). En el caso de picofitoplancton se consideraron los biovolúmenes estimados por Gerea et al. (2016).

El cálculo de biomasa de los ciliados se estimó utilizando la moda de contenido de *Chlorella* siguiendo a Woelfl & Geller (2002). El diámetro de *Chlorella* sp. se estimó en 5 µm; por tanto, el biovolumen fotosintético efectivo de cada ciliado se estimó multiplicando el biovolumen de esta por el número de *Chlorella* por ciliado.

Se aplicó el criterio de Sommer (1981) y de Taylor & Wetzel (1988) que considera que las especies más importantes en la comunidad fitoplanctónica son las que contribuyen con más del 5% a la biomasa total.

Identificación taxonómica del fitoplancton

La identificación taxonómica se realizó utilizando la siguiente bibliografía: Huber-Pestalozzi (1941, 1968, 1983), Komárek & Komarkova (2003), Shubert (2003), Gerroth (2003), Stoermer & Julius (2003), Kingstom (2003), Kociolek & Spaulding (2003 a y b), Krugrens (2003), y también utilizando la plataforma AlgaeBase (Guiry & Guiry, 2023).

III.2.3 Análisis por Grupos Funcionales

Análisis de grupos funcionales

Los taxones del fitoplancton y de las algas endosimbiontes de los ciliados mixotróficos se clasificaron en grupos funcionales (GF) siguiendo la clasificación realizada sobre características funcionales de las especies en relación con la utilización de recursos limitantes, disturbio y *stress* (Mitra et al., 2016; Padisák et al., 2009; Reynolds et al., 2002a). Esta clasificación condensa a muchas de las especies fitoplanctónicas en asociaciones funcionales identificadas por un código alfanumérico.

Parámetros Comunitarios

Se determinaron diversos parámetros de la comunidad fitoplanctónica como la riqueza específica, la diversidad, la equitatividad y la dominancia. Estos índices fueron calculados utilizando la biomasa de cada especie como una expresión de abundancia.

Índice de diversidad

La diversidad específica (H') fue estimada mediante el índice de Shannon-Wiener (Hill, 1973) a partir de los datos de biomasa según la siguiente ecuación:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \cdot \ln p_i$$

Donde S es el número de especies y p_i corresponde a la contribución relativa de cada especie a la biomasa total.

Índice de equitatividad

El índice de equitatividad (E) (Pielou, 1969 en Hill, 1973) fue calculado a partir de H' y del número de especies, como:

$$E = \frac{H'}{H_{\text{máx}}}$$

donde $H_{\text{máx}} = \ln S$

Índice de dominancia

El índice de Simpson (D) (Simpson, 1949) se utilizó para evaluar la dominancia en la comunidad y se calculó de la siguiente forma:

$$D = \frac{1}{\sum_{i=1}^S p_i^2}$$

Donde p_i representa la biomasa relativa de la especie i y con respecto a la biomasa total de la comunidad.

III.2.4 Análisis estadísticos

Al igual que en el Capítulo II, para evaluar diferencias estadísticas, se promediaron los datos de las diferentes profundidades delimitando tres estratos: **estrato superior** (muestras de 1, 10 y 20 m), **estrato medio** (muestras de 30 y 40 m), y **estrato inferior** (muestras de 50 m hacia el fondo) (para más detalles ver Capítulo II, sección II.2.7).

La sucesión de los grupos funcionales (GF), y los parámetros comunitarios, fueron analizados utilizando ANOVAs de medidas repetidas (RM ANOVA). Los factores principales fueron los lagos (con dos niveles: ME y MO), y los estratos (con tres niveles: estrato superior, estrato medio, y estrato inferior) y el tiempo como medidas repetidas. Además, para determinar las diferencias significativas entre tratamientos, se aplicó el *test a posteriori* de Tukey (Zar, 1999). Estos análisis fueron efectuados utilizando el programa SPSS®. Para los gráficos se realizaron

contour plots con el programa Ocean Data View®. La sincronía, que es la variación simultánea de las variables entre los lagos se evaluó a través de correlaciones de *Pearson* utilizando el programa Infostat®.

Para comprender mejor la relación entre las variables físicas, químicas, biológicas y ambientales en la distribución de la biomasa de los GF, se utilizó un análisis de ordenamiento multivariado llamado MFA (*Multiple Factor Analysis*, Escofier & Pages, 1994). Para la selección de las variables ambientales se identificó preliminarmente la colinealidad entre las variables ambientales utilizando los factores de inflación de la varianza (VIF, por sus siglas en inglés). Las variables ambientales redundantes (con un VIF > 10) fueron eliminadas antes del análisis (Zuur et al., 2010). Otros estudios como los realizados por Beamud et al. (2010), Pinel-Alloul et al. (2020), entre otros utilizaron estos análisis de factores múltiples ya que les permitió integrar la información de todas las variables, y a la vez resumirla en un número menor de factores que explican la mayor parte de la variación en los datos. El análisis se realizó en el software estadístico R, utilizando los paquetes específicos para el análisis multivariado de datos, como FactoMineR y Factoextra (Kassambara & Mundt, 2020; Lê et al., 2008).

III.3 Resultados

III.3.1 Composición de la Comunidad Fotótrofa

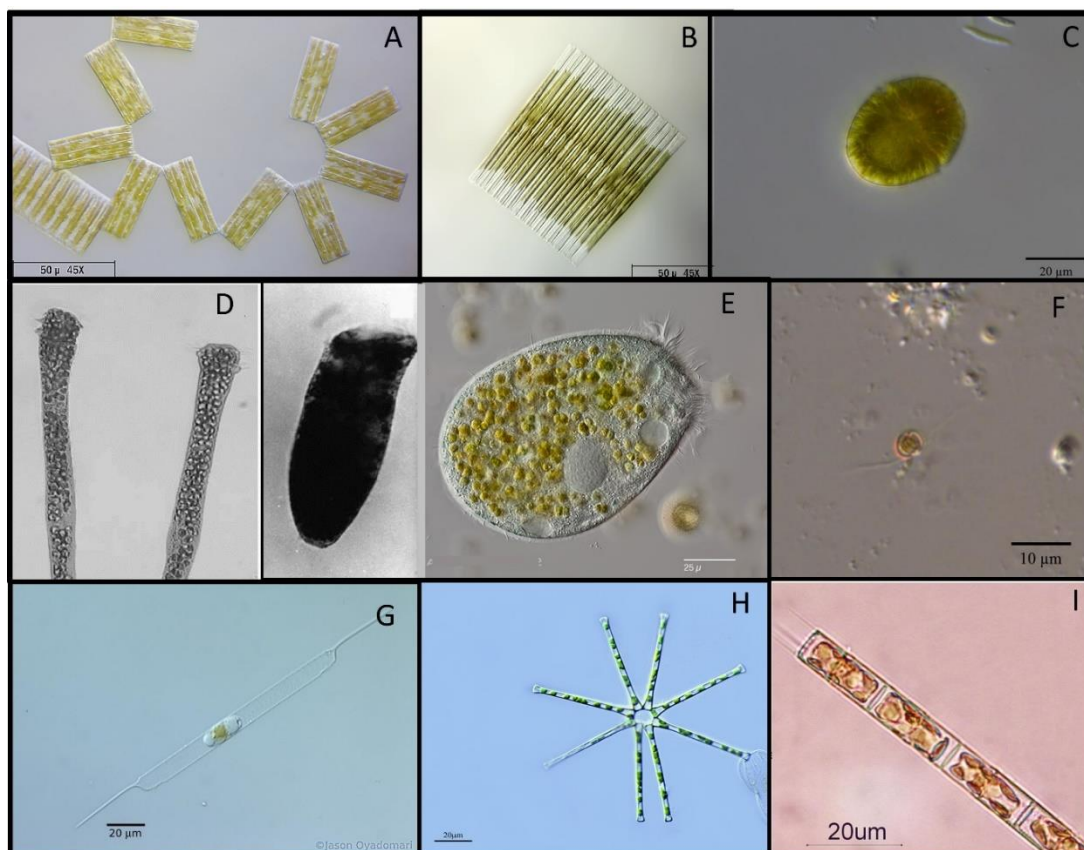
Análisis Taxonómico

Se describieron un total de 23 especies algales pertenecientes a las clases: Bacillariophyceae (8 especies), Cryptophyceae (4 especies), Chrysophyceae (1 especie), Haptophyceae (1 especie), Dictyocophyceae (1 especie), Dinophyceae (7 especies), Cyanophyceae (1 especie) y 1 especie perteneciente al phylum Chlorophyta correspondiente al alga *Chlorella* sp. endosimbionte de los ciliados mixotróficos *Ophrydium naumanni* Pejler y *Stentor araucanus* (Foissner & Woelfl, 1994) (Tabla III.1)

Tabla III.1. Listado de especies encontradas según su clase. En negrita se encuentran resaltadas aquellas que son mayoritarias (ver sección III.3).

Clase o <i>Phylum</i>	Especies
Bacillariophyceae	<i>Tabellaria fenestrata</i> , <i>T. flocculosa</i> , <i>Fragilaria crotonensis</i> , <i>Asterionella formosa</i> , <i>Urosolenia eriensis</i> , <i>Aulacoseira granulata</i> , <i>Discostella stelligera</i> , <i>Synedra</i> sp.
Dinophyceae	<i>Gymnodinium paradoxum</i> , <i>G. uberrimum</i> , <i>G. helveticum</i> , <i>G. varians</i> , <i>Peridinium willei</i> , <i>Peridinium</i> sp., <i>Ceratium hirundinella</i>
Cryptophyceae	<i>Cryptomonas marssonii</i> , <i>C. ovata</i> , <i>C. erosa</i> , <i>Plagioselmis lacustris</i>
Chrysophyceae	<i>Dinobryon sertularia</i>
Haptophyceae	<i>Chrysochromulina parva</i>
Dictyochophyceae	<i>Pseudopedinella</i> sp.
Chlorophyta	<i>Stentor araucanus</i> , <i>Ophrydium naumanni</i> (ciliados mixotróficos con endosimbiontes de <i>Chlorella</i> sp.)
Cyanobacteria	<i>Synechococcus</i> spp.

Figura III.1. Fotografías de microscopio óptico de las principales especies encontradas en los muestreos de: A: *Tabellaria fenestrata*; B: *Fragilaria crotonensis*; C: *Gymnodinium paradoxum*; D: *Ophrydium naumanni*; E: *Stentor araucanus*; F: *Chrysochromulina parva*; G: *Urosolenia eriensis*; H: *Asterionella formosa*; I: *Aulacoseira granulata*. Fuente de las imágenes: A y B, Natura Mediterraneo; C, Alchetron; D y E, modificadas de Modenutti (2014); F e I, Janina Kownacka de Nordic Microalgae; G, Keweenaw Algae; H, Proyecto Agua.



Picofitoplancton

Las picocianobacterias (Pcy), conformadas por *Synechococcus* spp. Nägeli, 1849, presentaron una abundancia total promedio entre 10^2 y 10^4 céls. mL^{-1} , sin diferencias significativas entre los lagos (RM ANOVA $p > 0,05$) (Figura III. 2). El rango de abundancia osciló entre $6,67 \cdot 10^2$ céls. mL^{-1} y $9,39 \cdot 10^4$ céls. mL^{-1} . Si bien la abundancia varió estacionalmente, el análisis dentro de cada lago y por fecha evidenció que el rango de abundancia fluctuó también ampliamente entre los estratos superior y medio en relación con el inferior, donde las abundancias fueron significativamente menores (RM ANOVA $p < 0,05$).

La abundancia promedio de los picoeucariotas (Peuk) en toda la columna de agua y en todos los muestreos fue para el ME de 211 ± 243 céls. mL^{-1} con rangos de abundancia entre 0 en el estrato inferior y 1049 céls. mL^{-1} , la abundancia media para el MO fue 180 ± 201 céls. mL^{-1} con rangos también 0 en el estrato profundo y 680 céls. mL^{-1} .

Nano y microfitoplancton

La composición taxonómica de estas fracciones de tamaño varió entre lagos, fechas y a lo largo de la columna de agua (Figura III.2). Los grupos taxonómicos que aportaron principalmente a la abundancia del nanoplancton fueron Cryptophyceae, Haptophyceae y Dictyochophyceae, mientras que al microfitoplancton fueron Bacillariophyceae, Dinophyceae, Chrysophyceae y Chlorophyta (sólo encontradas como endosimbiontes) (Tabla III.1). Cabe aclarar que se registraron algunas especies nanoplanctónicas dentro de las Bacillariophyceae y las Dinophyceae (como *Discostella stelligera*, *Gymnodinium varians* y *Peridinium* sp.) (Tabla III.1), pero con abundancias muy bajas.

Tanto en el ME como en el MO, las Bacillariophyceae microplanctónicas dominaron la abundancia durante todos los muestreos aportando a la abundancia promedio un 62 ± 12 % en el ME y un 68 ± 14 % en el MO. Para los dos lagos, el segundo grupo que más aportó fue el de

las Haptophyceae que contribuyeron con un $29\pm 12\%$ en el ME, y un $26\pm 13\%$ en el MO. En lo que refiere a los grupos minoritarios, las Cryptophyceae aportaron un $4,7\pm 2,6\%$ en el ME, mientras que en el MO un $1,4\pm 1\%$; en tanto que las Dinophyceae aportaron un $3,8\pm 2,3\%$ en el ME, y un $4\pm 1,6\%$ en el MO. Tanto las Chlorophyta como las Chrysophyceae aportaron menos del 1% a la abundancia total.

Si bien los aportes porcentuales de cada grupo taxonómico fluctuaron en el tiempo y en la columna de agua de ambos lagos, las abundancias totales de toda la comunidad fotótrofa fueron las que más variaron entre estaciones. Se observó un significativo aumento en la abundancia media de ambos lagos durante el invierno y la primavera de 2018 (RM ANOVA $p < 0,05$). Junto con este aumento, el patrón de distribución vertical siempre presentó mayores valores en los estratos superior y medio, formando máximos profundos de abundancia en la mayoría de las fechas estudiadas (Figura III.2). En el caso del ME la composición especie específica de estos máximos estuvo conformada por Bacillariophyceae con las especies *Fragilaria crotonensis* Kitton 1869 co-dominando *Tabellaria fenestrata* (Lyngbye) Kützing 1844 durante la mezcla de invierno. En la primavera esta relación se invirtió, siendo *T. fenestrata* la dominante y *F. crotonensis* junto con *Urosolenia eriensis* (H.L. Smith) Round & R.M. Crawford las especies acompañantes. Los máximos profundos de abundancia total también estuvieron conformados por Haptophyceae, siendo de mayor relevancia la especie *Chrysochromulina parva* Lackey 1939, y por Dinophyceae contribuyendo *Gymnodinium paradoxum* A.J. Schilling 1891 y *G. uberrimum* (G.J. Allman) Kofoed & Swezy 1921. Por otro lado, en el lago MO los máximos de abundancia estuvieron conformados mayoritariamente por *T. fenestrata* y *F. crotonensis* que disminuyó entre el invierno y la primavera 2018, y al igual que ocurrió con el ME las Haptophyceae y las Dinophyceae estuvieron conformadas mayoritariamente por *C. parva*, *G. paradoxum* y *G. uberrimum*, respectivamente.

Independientemente de la composición de especie que conformó los máximos de abundancia, dado el dinamismo de los ensambles, ciertas especies estuvieron presentes en la mayoría de las muestras (desde la superficie hasta el fondo). Estas especies fueron: *T. fenestrata* (Bacillariophyceae), *Gymnodinium paradoxum* y *G. uberrimum* (Dinophyceae), y *Chrysochromulina parva* (Haptophyceae). En tanto que otras especies como *O. naumanni* y *S. araucanus* (ciliados mixotróficos) se limitaron a los estratos iluminados superiores.

Las fracciones de tamaño en ambos lagos estuvieron por lo general dominadas por el microplancton (20-200µm). Sin embargo, en los estratos superior y medio del ME se observaron períodos con una predominancia del nanoplancton (2-20µm) coincidentes fundamentalmente con el aumento de la abundancia de *C. parva*.

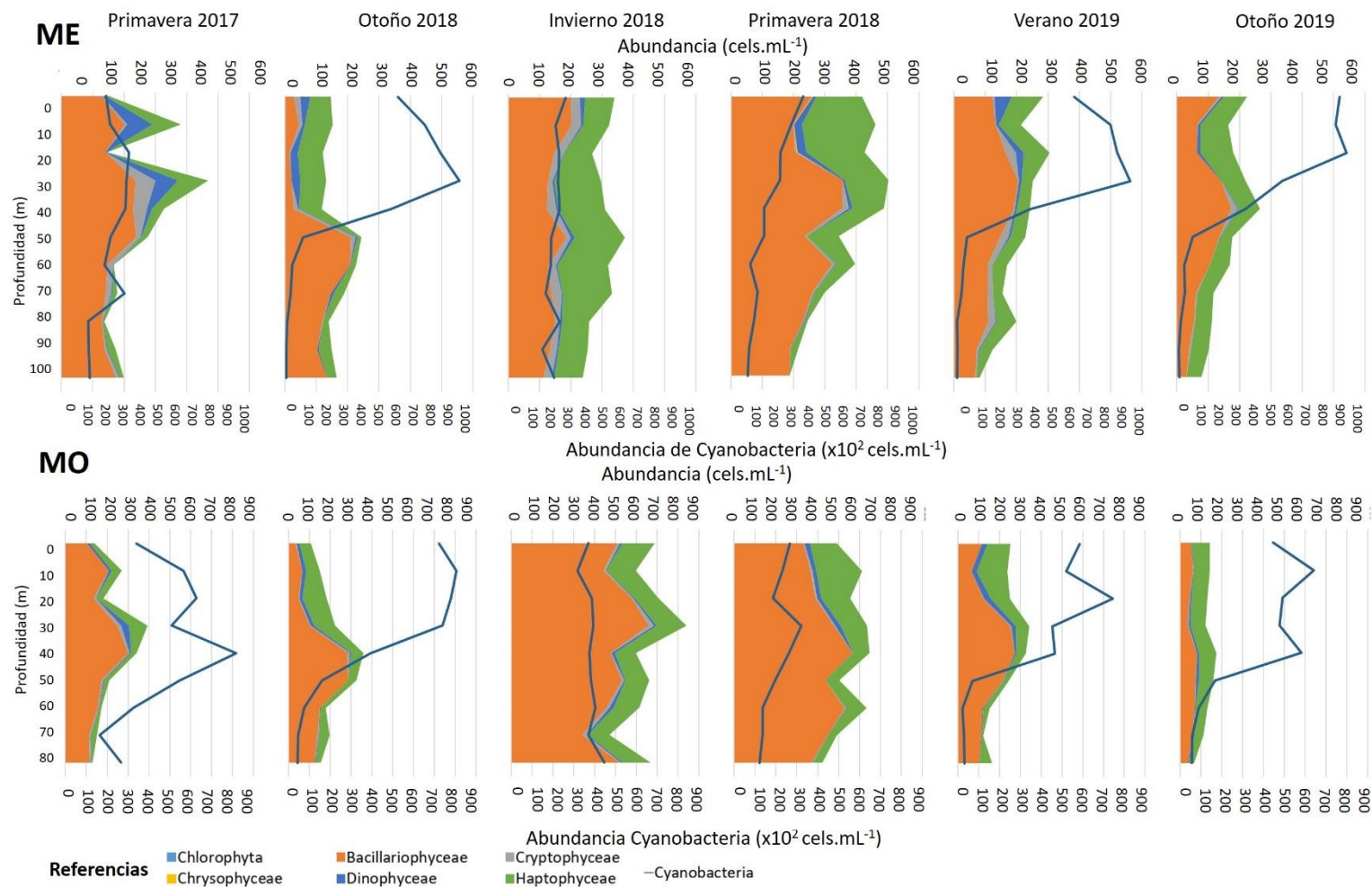


Figura III.2. Abundancia fitoplanctónica en células mL⁻¹ discriminados según clase a lo largo de la columna de agua por fechas en ambos lagos. El eje secundario corresponde a la abundancia de Cyanobacteria que es 2 órdenes de magnitud mayor.

Biomasa total

La biomasa total (fracciones pico+nano+micro) fluctuó considerablemente a lo largo de las estaciones y los valores de biomasa promedio fueron de $296,2 \pm 157,3 \mu\text{g L}^{-1}$ (rango $55,2 - 673,2 \mu\text{g L}^{-1}$) para ME y de $431,7 \pm 239,9 \mu\text{g L}^{-1}$ (rango $100,3 - 886,9 \mu\text{g L}^{-1}$) para MO (Figura III.3). No se registró sincronía entre los lagos ($r = 0,45$; $p = 0,06$), y se observó un desfase en los máximos de biomasa total entre lagos. La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $<0,05$) siendo la biomasa del MO mayor que la del ME durante el invierno y primavera 2018. En el lago ME los mayores valores se registraron durante la primavera tardía en 2018, mientras que en el lago MO el máximo presentó un desarrollo más prolongado, comenzando durante la mezcla de invierno y extendiéndose hacia la primavera temprana con valores significativamente menores en el estrato inferior en comparación con los estratos superior y medio (RM ANOVA $p < 0,05$). Los valores registrados en las capas superficiales (estrato superior) se diferenciaron de los obtenidos en el estrato medio (RM ANOVA $p < 0,05$). De esta manera, se observaron cambios temporales en la biomasa total en los tres estratos de ambos lagos, pero en especial en los estratos superior y medio, de hecho, durante el invierno y principios de la primavera los estratos fueron diferentes entre lagos (RM ANOVA $p < 0,05$). A través del análisis de la biomasa total, se documentó el desarrollo en ambos lagos de picos profundos de biomasa. Además, se observó lo dinámico que estos fueron tanto en composición, como en posición dentro de la columna de agua. Conforme se estableció la estratificación de manera más fuerte y se agotaron los recursos disponibles en los estratos superior y medio (especialmente el nitrato, Capítulo II), la biomasa total disminuyó en esas masas de agua en ambos lagos.

Como ya se observó en el Capítulo II, quedan resaltados tres períodos. Antes de la mezcla de invierno, la mezcla y post mezcla. En este sentido el MO que tiene una estabilidad térmica menor (SSI) evidencia un mayor desarrollo de biomasa fotótrofa total en invierno,

extendiéndose hasta la primavera. Mientras que el ME, tiene un menor desarrollo de biomasa, y su mayor desarrollo ocurre en la primavera 2018, desfasado del lago MO (Figura III.3).

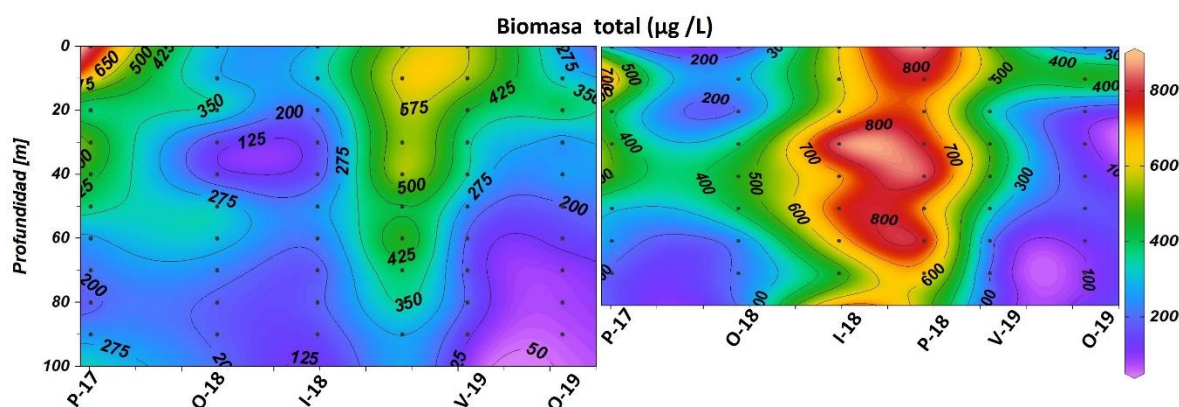


Figura III.3. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de la Biomasa total ($\mu\text{g L}^{-1}$). La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro.

Contribución de las fracciones de tamaño y de los grupos taxonómicos

El análisis de la contribución de las fracciones de tamaño a la biomasa total en ambos lagos evidenció la dominancia del microplancton (20-200 μm), con un aporte del $\sim 93,75\%$ en el ME y del $\sim 94,89\%$ en el MO, mientras que el nanoplancton (2-20 μm) aportó un $\sim 3,34$ y $2,07\%$, respectivamente, y el picoplancton (0,2-2 μm) un $2,90\%$ en ME y un $3,02\%$ en MO.

Dentro del microfitoplancton, el mayor porcentaje de biomasa estuvo compuesto por Bacillariophyceae y Dinophyceae, junto con las Chlorophyta endosimbiontes llegando al $98,7\%$ en el ME y al $99,4\%$ en el MO. Dentro de estos grupos, los géneros pertenecientes a *Gymnodinium* y *Tabellaria* tendieron a distribuirse de manera uniforme en la columna de agua, mientras que las Chlorophyta endosimbiontes fueron encontradas fundamentalmente en los estratos superior y medio (iluminados).

De los tres grupos mencionados, la diatomea *Tabellaria fenestrata* dominó la biomasa de toda la comunidad en prácticamente todas las fechas y en ambos lagos. Según la posición en la columna de agua (estrato) se encontró acompañada por las Chlorophyta endosimbiontes de los ciliados mixotróficos *S. araucanus* y *O. naumanni* (especialmente en el estrato superior), o

bien por otras diatomeas de distinto grupo funcional (ver más adelante). Además, los lagos se diferenciaron no sólo en cuanto a sus biomásas, sino que los ensambles de especies y los valores de los parámetros comunitarios fueron diferentes, así como el complejo dominante y la sucesión, como se explicará más adelante en este Capítulo.

Dentro del nanoplancton las especies que lo conformaron fueron *Discostella stelligera*, *Peridinium* sp., *G. varians*, *Pseudopedinella* sp., *P. lacustris* y *C. parva*, conformando estas últimas tres las de mayor aporte a esta fracción de tamaño y la cual será analizada como el grupo funcional X2 más adelante en este Capítulo.

Por último, en lo que respecta al picoplancton, en el ME el 97,3% de la biomasa media total de esta fracción correspondió a las Pcy, mientras que 2,70% a las Peuk, en el MO el 98,1% de la biomasa media total fueron las Pcy y el 1,9% de Peuk. Considerando que las Pcy conforman un grupo funcional en sí mismas, serán analizadas más adelante en la sección correspondiente a Grupos Funcionales. Por su parte, las Peuk presentaron una contribución muy baja a la biomasa total, siendo de $0,217 \pm 0,251 \mu\text{g L}^{-1}$ para el ME (Figura III.4) con un rango entre 0 y $1,05 \mu\text{g L}^{-1}$, y de $0,185 \pm 0,207 \mu\text{g L}^{-1}$, con un rango de 0- $0,68 \mu\text{g L}^{-1}$ para el MO (Figura III.4). En ambos lagos sólo se encontró a las Peuk en los estratos medio y superior, diferenciándose del estrato inferior (RM ANOVA $p < 0,05$).

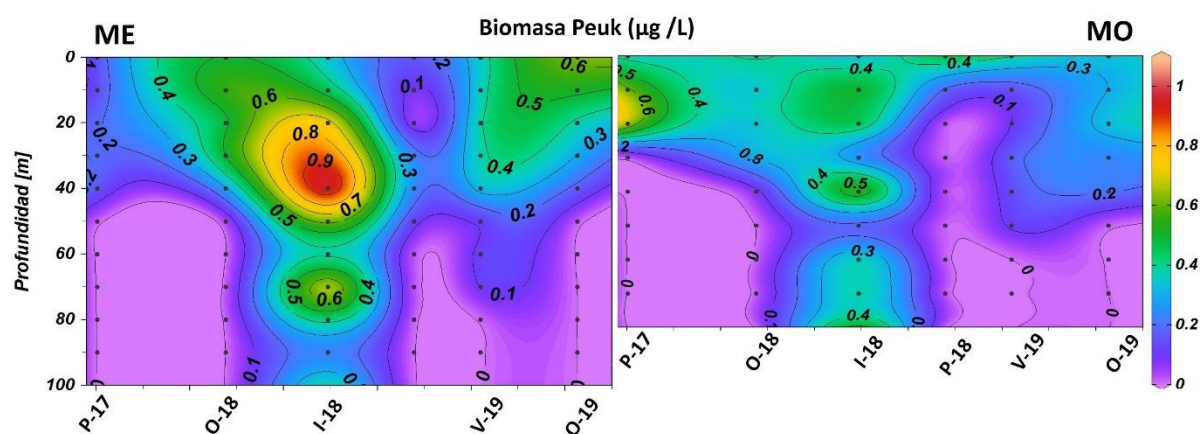


Figura III.4. Countour plot reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de la biomasa ($\mu\text{g L}^{-1}$) de picoeucariotas (Peuk). La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro.

III.3 Parámetros Comunitarios

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de estos parámetros comunitarios, calculados a partir de los valores de biomasa.

Riqueza específica

La riqueza específica del nano y microplancton promedio fue de 12-13 especies para ambos lagos (rango ME: 5-20 especies, MO: 6-21 especies; Figura III.5A). La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) siendo los lagos significativamente diferentes en su riqueza específica durante el invierno con, un mayor número de especies el lago MO. En todas las fechas resultó evidente la disminución considerable en la riqueza de especies en el estrato inferior. En el lago ME la interacción tiempo*estrato fue significativa (RM ANOVA $p < 0,05$), destacando que, si bien los estratos en el tiempo no variaron significativamente en su riqueza específica, si se observó una diferenciación entre el estrato inferior y el estrato superior durante los otoños (abril 2018 y 2019) y el verano (enero 2019). Para estas fechas, siempre se registró un mayor el número de especies en el estrato superior (Figura III.5a). Por otro lado, en el lago MO el tiempo fue significativo (RM ANOVA $p < 0,05$), observándose diferencias en la riqueza de especies en cada estrato a lo largo del periodo de estudio. En particular, durante el invierno el número de especies fue considerablemente mayor (RM ANOVA $p < 0,05$), mientras que en las restantes fechas la cantidad de especies que componen el fitoplancton fue considerablemente menor para los distintos estratos (entre 6 y 13 especies), con la única excepción que fue el estrato superior que en la primavera del 2018 mostró 17 especies.

Diversidad de Shannon

El índice de diversidad (H') varió en un rango de 0,38 - 3,01 para ME, y de 0,2 - 2,63 para MO. En ambos lagos se reflejó una considerable diferencia estacional y entre profundidades, siendo menor la diversidad en el hipolimnion de ambos lagos (Figura III.5B). Durante la mezcla invernal se observó en ambos lagos una homogeneización en los valores de diversidad siendo la media en la columna de agua de 2,57 para ME y 1,74 para MO. La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) y los lagos se diferenciaron en ambas primaveras y durante la mezcla de invierno, siendo siempre mayor la diversidad en el ME. En ME la interacción tiempo*estrato resultó significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) y si bien el estrato superior no cambió significativamente en el tiempo, durante el invierno aumentó significativamente la diversidad tanto para el estrato medio, que se diferenció del verano, como para el estrato inferior, siendo máxima la diversidad en este estrato respecto las restantes fechas. Por otra parte, el estrato inferior se diferenció de los estratos superiores prácticamente en todas las fechas, excepto durante la mezcla de invierno y el verano. En el lago MO también resultó significativa la interacción tiempo*estrato (RM ANOVA $p < 0,05$) y el estrato inferior se diferenció de los estratos superiores en todas las fechas excepto en invierno.

Dominancia

El índice de Simpson fluctuó entre 0,16 y 0,91 para ME y 0,20 y 0,95 para MO, se encontraron diferencias significativas entre lagos durante la primavera 2017 y en invierno y primavera 2018 (Figura III.5C). En el caso del ME el tiempo*estrato fue significativo (RM ANOVA $p < 0,05$) y no se registraron cambios en el estrato superior, mientras el estrato medio registró cambios entre el invierno y el verano, y el estrato inferior fue mínimo durante el invierno. En este sentido, el estrato inferior se diferenció de los superiores en todas las fechas, excepto en invierno. El lago MO tuvo mayores índices de Simpson en el estrato inferior (RM ANOVA $p < 0,05$) y en invierno los valores fueron más bajos en toda la columna de agua.

Equitatividad

La equitatividad fluctuó entre 0,14 y 0,34 para ME y entre 0,16 y 0,33 para MO. Se evidenció una mayor equitatividad en los estratos superior y medio en los dos lagos estudiados. La interacción tiempo*lago dió significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) y los lagos se diferenciaron durante el otoño 2018 y el verano 2019, donde la equitatividad fue mayor en el ME. La interacción tiempo*estrato en el ME resultó significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) evidenciando que el estrato superior no cambió en el tiempo, mientras que el estrato medio fluctuó especialmente entre otoños, y el estrato inferior fue mínimo en el otoño 2019. Por otro lado, el MO presentó en invierno un máximo de equitatividad en toda la columna de agua y el estrato inferior fue menos equitativo que los estratos superiores para todas las otras fechas estudiadas (Figura III.5D).

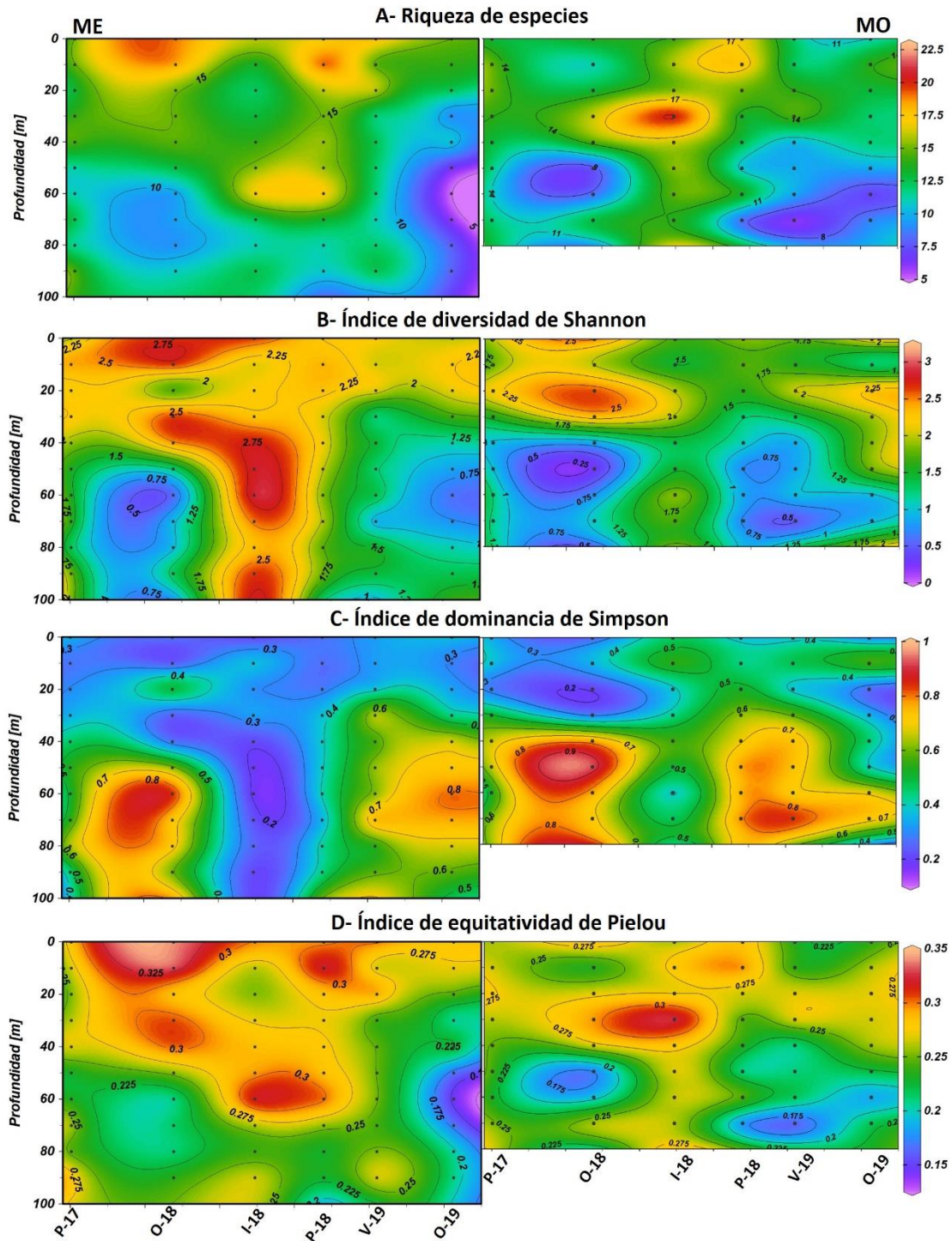


Figura III.5. *Countour plots* reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de: A - Riqueza de especies; B - del índice de diversidad de Shannon; C- del índice de dominancia de Simpson y; D - del índice de equitatividad de Pielou. La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro.

Grupos Funcionales

Las especies descritas del fitoplancton y las algas endosimbiontes de los ciliados mixotróficos fueron clasificadas en Grupos Funcionales (GF) según Padisák et al. (2009 y Mitra et al. (2016), respectivamente. Se obtuvieron 12 Grupos Funcionales como se describe a continuación (Tabla III.2). Los GF con mayor número de especies fueron Lo (4 spp.), Y (3 spp.), X2 (3 spp.), N (2 spp.), P (2 spp.) y eSNCM (2 spp.) (Tabla III.2), mientras que cinco de los restantes grupos estuvieron constituidos por una sola especie cada uno.

Tabla III.2. Grupos funcionales hallados, hábitat típico y especies que se encontraron en el estudio, en base a Mitra et al. (2016) y Reynolds et al. (2002) revisado por Padisák et al. (2009).

GF	Hábitat típico	Especies
N	Ambientes meso-eutróficos continuos o semicontinuos. Capa de mezcla de 2-3 m de espesor.	<i>Tabellaria fenestrata</i> , <i>T. flocculosa</i> ,
X2	Ambientes meso-eutróficos poco profundos.	<i>Chrysochromulina parva</i> , <i>Pseudopedinella</i> spp., <i>Plagioselmis lacustris</i>
B	Mesotróficos pequeños y medianos con especies sensibles al inicio de la estratificación.	<i>Discostella stelligera</i>
eSNCM	Especialista mixótrofo no constitutivo que adquiere fotosistemas de endosimbiontes.	<i>Ophrydium naumanni</i> , <i>Stentor araucanus</i>
Lo	Aguas poco profundas a profundas, de bajas a eutróficas, cuerpos de agua grandes.	<i>Gymnodinium paradoxum</i> , <i>G. uberrimum</i> , <i>G. helveticum</i> , <i>Peridinium</i> spp.
Y	Ecosistemas lénticos, zona de aguas enriquecidas.	<i>G. varians</i> , <i>Cryptomonas marssonii</i> , <i>C. ovata</i>
A	Lagos claros, profundos y con poca base, con especies sensibles al aumento del pH.	<i>Urosolenia eriensis</i>
D	Aguas turbias poco profundas, incluyendo los ríos.	<i>Synedra</i> spp.
C	Lagos eutróficos de tamaño pequeño y mediano con especies sensibles al inicio de la estratificación.	<i>Asterionella formosa</i>
P	Zona de aguas eutróficas.	<i>Aulacoseira granulata</i> , <i>Fragilaria crotonensis</i>
E	Suelen ser lagos pequeños, poco profundos y con poca base o lagunas heterótrofas.	<i>Dinobryon sertularia</i>
Z	metalimnion o hipolimnion superior de lagos oligotróficos.	<i>Synechococcus</i> spp.

Cinco codones fueron los más frecuentes durante la serie temporal y con mayor contribución porcentual a la biomasa total (como promedio de la columna de agua), representando un 90,5 % en el ME y un 93,7% en el MO (Tabla III.3). Estos cinco codones fueron:

- N (dominado por *T. fenestrata*) (ME= 53,8%, MO=63,8%),
- eSNCM (Chlorophyta endosimbiontes) (ME=11,4%, MO=14,3%),
- Lo (*G. paradoxum* y *G. uberrimum*) (ME=9,1%, MO=7,5%),
- A (*U. eriensis*) (ME= 10,9%, MO=5,3%),
- P (*F. crotonensis*) (ME=5,5%, MO=2,9%)

Tabla III.3. Contribución porcentual a la biomasa de los grupos funcionales, media con desvío (D.E.) y rango para los lagos Moreno Este (ME) y Oeste (MO).

Contribución porcentual	Moreno Este				Moreno Oeste			
	Media	D.E.	Mín	Máx	Media	D.E.	Mín	Máx
Lo	9,1	7,5	1,2	45,4	7,4	6,1	1,1	38,4
Y	1,5	2,3	0,0	13,5	1,0	0,9	0,0	3,7
B	1,5	1,7	0,0	6,7	0,4	0,6	0,0	2,6
A	10,9	10,6	0,0	40,0	5,3	5,1	0,0	20,0
D	2,1	2,3	0,0	12,4	0,9	1,4	0,0	6,2
C	0,2	0,3	0,0	1,4	0,3	1,0	0,0	6,7
N	53,8	25,3	3,1	94,9	63,8	21,7	17,9	96,7
E	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,2
X2	1,3	1,3	0,0	5,5	0,6	0,4	0,1	1,8
P	5,5	8,8	0,0	38,4	2,9	4,5	0,0	17,7
eSNCM	11,2	18,2	0,0	77,0	14,3	19,6	0,0	71,6
Z	2,9	3,2	0,1	19,5	3,0	3,2	0,3	14,3

Sucesión y distribución vertical de los Grupos Funcionales

La sucesión fue evidente en los cambios de biomasa y composición de los grupos funcionales. En este sentido, se consideraron los grupos funcionales cuya contribución a la biomasa total fue mayor al 5%, es decir: N (*T. fenestrata*), eSNCM (Chlorophyta endosimbiontes), A (*U. eriensis*), Lo (*G. paradoxum* y *G. uberrimum*) y P (*F. crotonensis*).

El grupo funcional N (compuesto principalmente por *Tabellaria fenestrata* y en menor medida por *T. flocculosa*) representó para ambos lagos el mayor aporte a la biomasa total. En promedio para toda la columna de agua y todas las fechas este GF representó el 53,8% para el ME (rango de 12-36 $\mu\text{g L}^{-1}$) y el 63,8% para el MO (rango de 36–718 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Figura III.5A). No se observó sincronía entre ambos lagos para este grupo funcional ($r=0,41$; $p=0,088$). El lago ME registró una clara estacionalidad con aumento en la biomasa del GF N en toda la columna de agua en el invierno, disminuyendo hacia el verano y continuando esta tendencia en el otoño del 2019 (RM ANOVA $p<0,05$; Figura III.6A). El estrato que más variaciones tuvo de este GF fue el estrato medio, registrándose, además, en las primeras capas del estrato inferior aumentos previos a la mezcla de invierno. El lago MO también presentó variaciones estacionales, y si bien el comienzo del máximo de biomasa del GF N se inició en invierno, los mayores valores se alcanzaron durante la primavera del 2018 (Figura III.6A). Tanto el estrato medio, como los primeros metros del estrato inferior, fueron los que mayores valores de biomasa registraron (RM ANOVA $p<0,05$). Al igual que ocurrió en el lago ME, el estrato medio fue el que presentó un mayor cambio en este GF (RM ANOVA $p<0,05$), y en ambos casos el máximo fue durante la primavera tardía. Así, la triple interacción tiempo*lago*estrato fue significativa (RM ANOVA $p=0,035$) y se observó que tanto el estrato superior como el inferior durante la mezcla de invierno y la primavera temprana fueron distintos entre lagos. Por su parte, el estrato medio, excepto en la primavera de 2017, fue siempre diferente entre ambos lagos, y significativamente mayor en MO (RM ANOVA $p<0,05$).

La biomasa del GF Lo (*G. paradoxum* y *G. uberrimum*) fluctuó entre 2,8 y 102 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ME y entre 5,4 y 64 $\mu\text{g L}^{-1}$ para MO (Figura III.5B). Se observó sincronía de este GF entre ambos lagos ($r=0,70$; $p=0,0014$). No se registró diferencias entre lagos (RM ANOVA $p=0,814$) en el promedio de la biomasa del GF Lo en la columna de agua para la misma fecha. Sin embargo, sí se observaron variaciones significativas en la biomasa de este GF en el tiempo (RM

ANOVA, $p=0,034$), siendo mayor, para ambos lagos, la biomasa de la primera fecha (primavera 2017) de las subsiguientes. El lago ME siempre mostró diferencias significativas entre estratos (RM ANOVA $p<0,05$), siendo los valores de biomasa de este GF en el estrato inferior considerablemente menores que el de los estratos medio y superior. Por otra parte, en el MO la relación tiempo*estrato fue significativo (RM ANOVA $p<0,05$), siendo la primavera 2017 diferente de las restantes fechas, y la primavera 2018 diferente del verano. Además, las mayores fluctuaciones de biomasa de este GF ocurrieron en el estrato medio para ambos lagos, donde se observó que se conforma el máximo profundo de clorofila (Capítulo II).

La biomasa del GF eSNCM (Chlorophyta endosimbiontes) se desarrolló con un claro patrón espacio-temporal. La presencia de este GF se registró fundamentalmente en los estratos superiores de ambos lagos durante los períodos más cálidos, con valores máximos de biomasa de 380 y 363 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ME y MO, respectivamente (Figura III.6C). Se observó una fuerte sincronía entre ambos lagos ($r = 0,91$ $p<0.001$) y no se encontraron diferencias significativas en las biomásas de este GF entre lagos (RM ANOVA $p<0,05$). Ambos lagos presentaron valores mínimos de biomasa en invierno, respecto el resto de las fechas muestreadas (RM ANOVA $p<0,05$). En el ME, el factor estrato fue significativo (RM ANOVA, $p<0,05$) observándose siempre una mayor biomasa de este GF en el estrato superior. Por otro lado, el MO la interacción tiempo*estrato fue significativa (RM ANOVA, $p=0,015$), siendo la biomasa del estrato superior significativamente mayor que en los otros dos estratos durante la época estival.

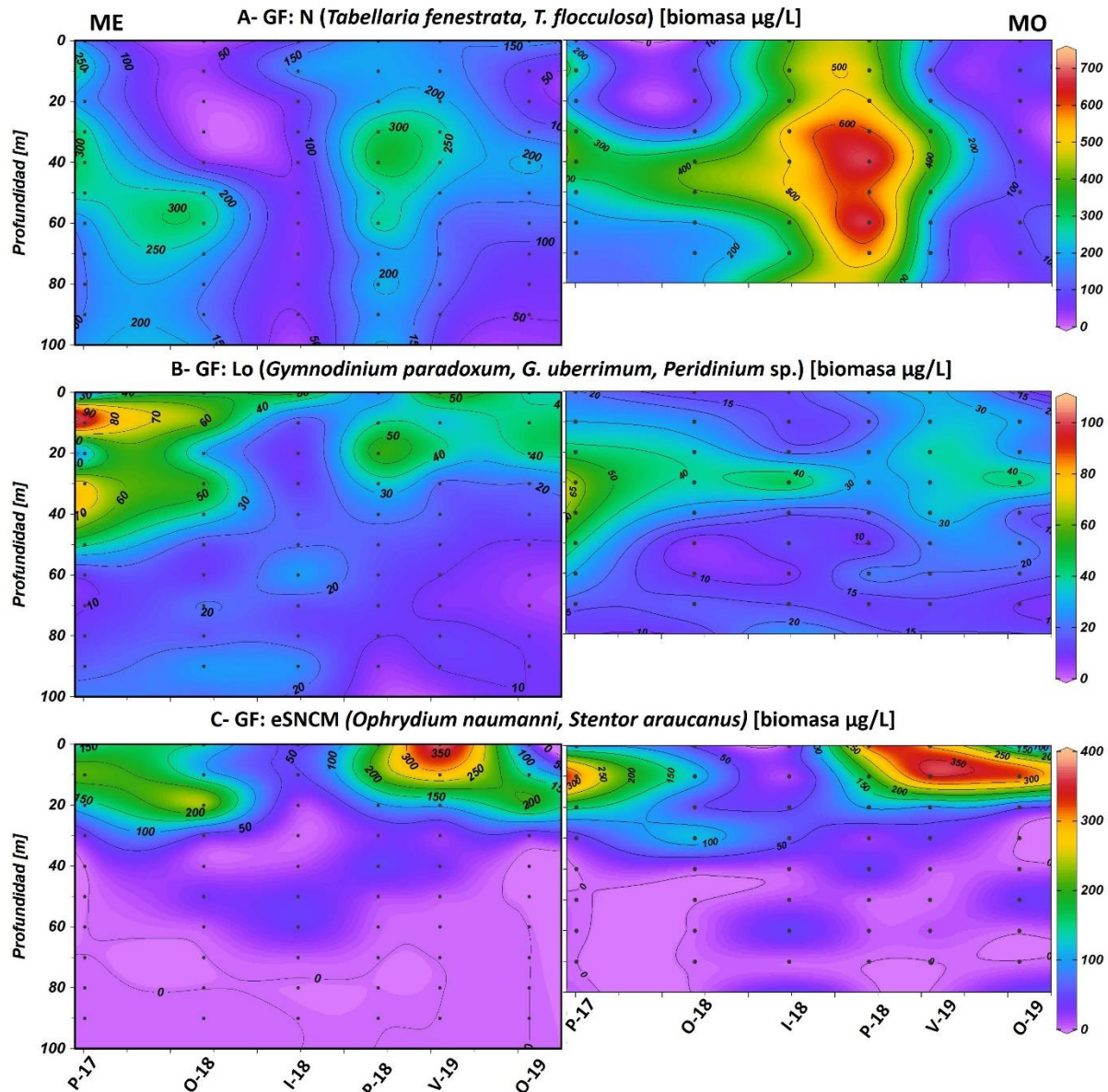


Figura III.6. Countour plots reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de la biomasa de los grupos funcionales: N (panel A); Lo (panel B); eSNCM (panel C). La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro.

La biomasa del GF A (*U. eriensis*) fluctuó considerablemente durante el estudio, observando que su mayor contribución se produjo durante los períodos en que los lagos se encontraron mezclados o con estratificación incipiente (Figura III.7A). El valor máximo de biomasa de este grupo fue de $199 \mu\text{g L}^{-1}$ para ME y de $144 \mu\text{g L}^{-1}$ para MO. No se observó sincronía entre lagos ($r=0,35$; $p=0,145$), observándose entre lagos valores distintos de biomasa durante el invierno y la primavera temprana. El lago ME presentó valores de biomasa significativamente mayores

que el MO (RM ANOVA, $p < 0,05$), presentando un aumento considerable de biomasa durante la primavera 2018. Un patrón distinto se observó en el MO donde el máximo de este GF se alcanzó en el invierno, y especialmente en el estrato inferior. Durante la primavera tardía los valores del estrato inferior, mientras que durante la primavera disminuyeron, equiparándose a los restantes estratos y disminuyendo hacia el verano y otoño.

El grupo funcional P [*F. crotonensis*, *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen 1979], también presentó un patrón estacional muy marcado, observándose sus máximos valores de biomasa durante el invierno, pero con valores significativamente diferentes entre lagos (RM ANOVA $p < 0,05$). El valor máximo invernal fue de $71 \mu\text{g L}^{-1}$ para el ME y de $133 \mu\text{g L}^{-1}$ para el MO (Figura III.7B). Se observó sincronía entre ambos lagos para la biomasa del este GF ($r=0,91$; $p < 0,0001$), existiendo un único máximo durante la mezcla de invierno, y disminuyendo en ambos lagos hacia el otoño. La interacción tiempo*lago fue significativa (RM ANOVA $p < 0,05$) siendo los lagos diferentes en la primavera tardía 2017 y en el invierno, cuando el MO presentó una mayor biomasa.

Por último, se analizó los GF X2 y Z, que a pesar de no haber tenido un importante aporte a la biomasa total ($X2 \approx \text{máx } 5,5\%$, $Z \approx 19,5\%$; aporte promedio al total Tabla III.3), los mismos desempeñan un rol fundamental en las tramas tróficas debido a su condición de *pastoreables* por tratarse de nanoflagelados y de picoplancton.

La biomasa de X2 fluctuó entre $2,9 \pm 2,3 \mu\text{g L}^{-1}$ para el lago ME, y entre 2,3 y $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$ para el MO (Figura III.7C). Se observó una sincronía entre ambos lagos ($r=0,90$; $p < 0,0001$). Se observó para los dos lagos un aumento significativo de la biomasa en toda la columna durante la mezcla de invierno y una progresiva, disminución hasta el otoño siguiente. En el caso del ME se observó una interacción significativa entre el tiempo*estrato (RM ANOVA $p=0,017$), donde principalmente el estrato inferior se diferenció del superior antes y después del máximo

de invierno. En el lago MO no presentó tal interacción tiempo*estrato, y sólo se observaron cambios en el tiempo, siendo el invierno distinto a las fechas restantes.

La biomasa media total de Z para el ME fue de $7,8 \pm 7,4 \mu\text{g L}^{-1}$ y el rango de biomasa osciló entre 0,18 y $25,4 \mu\text{g L}^{-1}$ para el ME, mientras que para el MO fue de $9,5 \mu\text{g L}^{-1}$ con un rango de 0,6-22,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Figura III.7D). En ambos lagos los estratos medio y superior presentaron mayores valores promedio de biomasa que el estrato inferior (RM ANOVA $p < 0,05$). En relación con la estacionalidad, se observó un aumento progresivo en la biomasa de Pcy en ambos lagos en los estratos medio y superior conforme avanzó la estratificación. La mezcla de invierno actuó homogeneizando toda la columna a una biomasa media en esta fecha de $6,7 \mu\text{g L}^{-1}$ en el ME y de $10,3 \mu\text{g L}^{-1}$ en el MO (Figura III.7D).

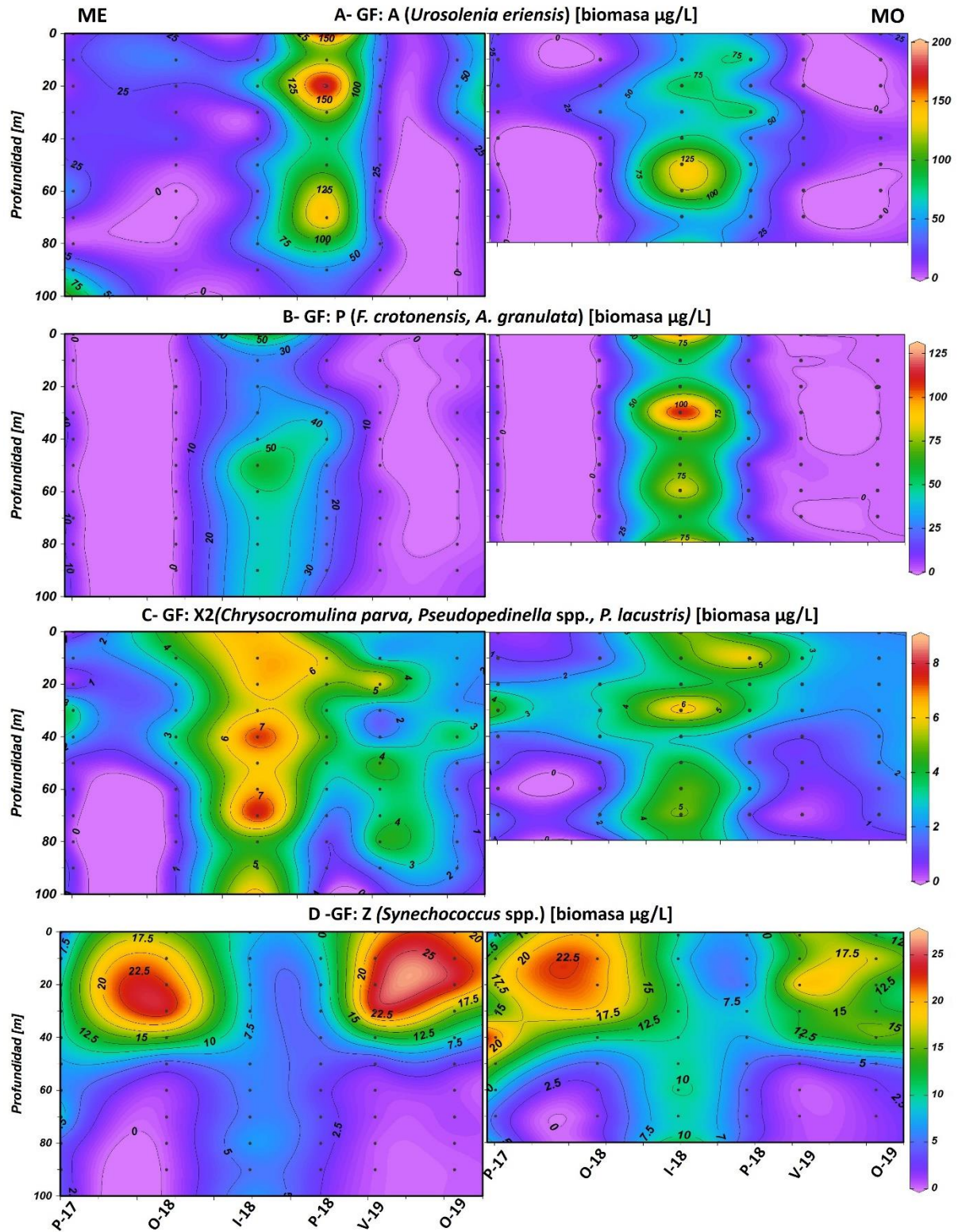


Figura III.7. Countour plots reflejando la variación temporal y en profundidad en los lagos ME (izquierda) y MO (derecha) de la biomasa de los grupos funcionales: A: GF A; B: GF P; C: GF X2; D: GF Z. La escala de la variable se encuentra a la derecha de cada parámetro.

Integración de biomasa total según GF

La Figura III.8 integra los cambios ocurridos en la biomasa, según los grupos funcionales, quedando claramente marcada la variación de la biomasa total en el tiempo (analizado anteriormente en este capítulo).

Como los períodos de los lagos*¹, permitieron identificar marcadas diferencias en la composición de los ensambles vertical y estacional, se investigaron estos según las especies que dominaron o en su defecto co-dominaron, junto con las especies acompañantes (Tabla III.4). El taxón dominante se estableció cuando su contribución a la biomasa superó en más de la mitad al siguiente taxón más abundante. En caso de que esta diferencia fuera menor, se consideró una situación de co-dominancia, hasta que la disparidad fuera significativa. Los taxones acompañantes fueron aquellos que contribuyeron con hasta un 3% de la biomasa total.

*¹Los períodos de los lagos, referencia a los resultados del Capítulo II, donde **primer período (I) antes de la mezcla de invierno**, un **segundo período durante la mezcla invernal (II)** caracterizado por un significativo aumento de la abundancia de la comunidad en toda la columna de agua y una fuerte liberación de nutrientes del estrato inferior (Capítulo II), y un **tercer período post mezcla (III)**.

Tabla III.4. Períodos descritos y su composición según estrato (superior, medio, inferior) para lago Moreno Este (ME) y Moreno Oeste (MO), taxa dominante/acompañante según especies, entre paréntesis grupo funcional al que pertenecen.

Período	Estrato	ME		MO	
		Taxa dominante	Taxa acompañante	Taxa dominante	Taxa acompañante
I	superior	<i>T. fenestrata</i> (N), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)	<i>U. eriensis</i> (A), <i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo), <i>Synechococcus</i> spp. (Z)	<i>T. fenestrata</i> (N), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)	<i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>O. naumanni</i> (eSNCM), <i>Synechococcus</i> spp. (Z)
	medio	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo), <i>U. eriensis</i> (A), <i>C. erosa</i> (X2)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>S. araucanus</i> (eSNCM), <i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo), <i>Synechococcus</i> spp. (Z)
	inferior	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>U. eriensis</i> (A), <i>G. paradoxum</i> (Lo)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo), <i>Synechococcus</i> spp. (Z)
II	superior	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>F. crotonensis</i> (P), <i>U. eriensis</i> (A), <i>S. araucanus</i> (eSNCM), <i>G. paradoxum</i> (Lo)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>F. crotonensis</i> (P), <i>U. eriensis</i> (A), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)
	medio	<i>T. fenestrata</i> (N), <i>F. crotonensis</i> (P), <i>U. eriensis</i> (A), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)	<i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo), <i>D. stelligera</i> (B)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>F. crotonensis</i> (P), <i>U. eriensis</i> (A), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)
	inferior	<i>F. crotonensis</i> (P), <i>T. fenestrata</i> (N), <i>U. eriensis</i> (A)	<i>S. araucanus</i> (eSNCM), <i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>U. eriensis</i> (A), <i>F. crotonensis</i> (P), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)
III	superior	<i>S. araucanus</i> (eSNCM), <i>T. fenestrata</i> (N), <i>U. eriensis</i> (A)	<i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>G. uberrimum</i> (Lo), <i>Synechococcus</i> spp. (Z)	<i>T. fenestrata</i> (N), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)	<i>O. naumanni</i> (eSNCM), <i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>U. eriensis</i> (A)
	medio	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>U. eriensis</i> (A), <i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>Synechococcus</i> spp. (Z), <i>S. araucanus</i> (eSNCM)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>S. araucanus</i> (eSNCM), <i>U. eriensis</i> (A), <i>G. paradoxum</i> (Lo), <i>F. crotonensis</i> (P)
	inferior	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>U. eriensis</i> (A), <i>Synechococcus</i> spp. (Z), <i>G. paradoxum</i> (Lo)	<i>T. fenestrata</i> (N)	<i>U. eriensis</i> (A), <i>F. crotonensis</i> (P), <i>S. araucanus</i> (eSNCM), <i>G. paradoxum</i> (Lo)

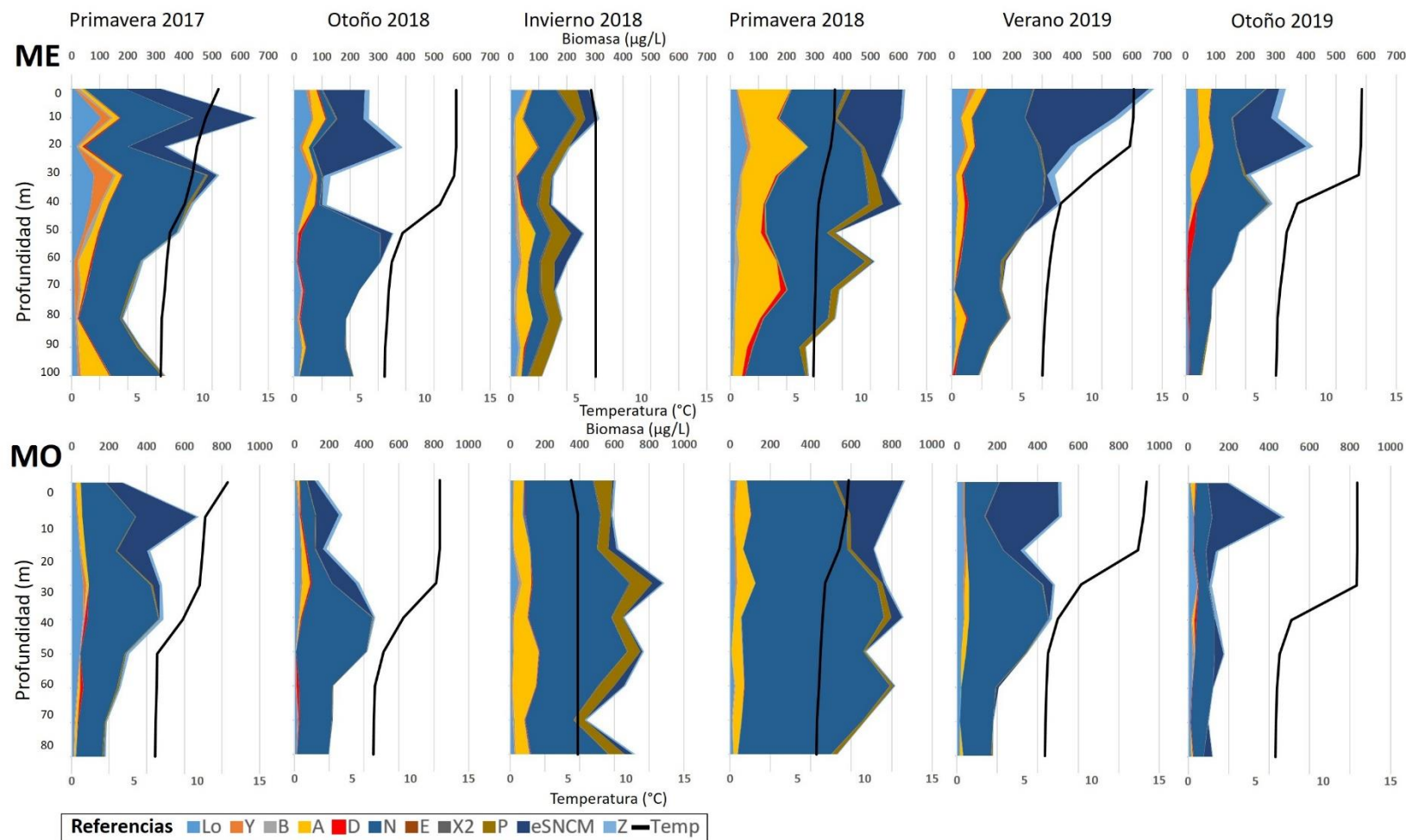


Figura III.8. Biomasa fitoplanctónica total según Grupos Funcionales a lo largo de la columna de agua para los 6 muestreos en ambos lagos. El eje secundario (línea roja) corresponde a la temperatura.

Grupos funcionales y variables ambientales

Análisis de Factores Múltiples

Se llevó a cabo un análisis integrado de los parámetros bióticos y abióticos a través de un Análisis de Factores Múltiples (MFA, por su sigla en inglés). Se efectuó este análisis considerando todas las fechas y las profundidades muestreadas en ambos lagos. El objetivo del MFA fue ordenar las muestras en relación con las principales variables ambientales obtenidas en el análisis.

Las variables incluidas en este análisis se dividieron en cinco categorías: biológicas, físicas, químicas, ambientales y morfométricas. Las variables biológicas se refieren a la biomasa de los GF presentes en los lagos. Las variables físicas están relacionadas con aspectos como la temperatura, la luminosidad, la relación $Z_{mix}:Z_{eu}$, la estabilidad térmica y la turbidez del agua (ad_{435}). Las variables químicas incluyen parámetros como la concentración de nutrientes y los correspondientes al estudio de la MOD. Las variables ambientales se refieren a factores externos como las precipitaciones acumuladas a 150 días, y al nivel del agua. Por último, las variables morfométricas se refieren a características geomorfológicas de los lagos, como el volumen del agua.

Con excepción de las variables biológicas de grupos funcionales, las restantes variables fueron presentadas en el Capítulo II. En ambos lagos el volumen de agua de los estratos quedó por fuera de la selección del modelo (test de contribución de variables), motivo por el cual no aparece en la contribución de las variables.

Moreno Este

La Figura III.9 muestra la distribución de las profundidades y variables en el espacio formado por los dos primeros ejes del análisis MFA para el lago ME. La varianza explicada para el eje 1 fue del 26,8% y para el eje 2 del 19%. El MFA de los 5 grupos de variables que se compararon

(biológicas, físicas, químicas, morfométricas, y ambientales) representó el 45,8% de la variación total explicada.

Las precipitaciones acumuladas, la SSI, y el nivel del agua tuvieron la contribución más importante en la primera dimensión, y en menor medida los grupos funcionales B, P, C y A, el OD, la clorofila, el NT y el NDT (MFA-1: 26.8%, Figura III.8C), mientras que las variables físicas T, Luz, Zmix:Zeu, las variables biológicas de grupos funcionales eSNCM, Z, Lo, Y y P y las variables químicas CID, NO₃ y S₂₇₅₋₂₉₅ contribuyeron en gran medida a la segunda dimensión (Figura III.9A).

El primer eje separó las masas de agua según las fechas quedando en los cuadrantes II y III los otoños y el verano, en coincidencia con una mayor estabilidad térmica, mientras que en el cuadrante I se separaron las primaveras con mayor nivel de agua y precipitaciones acumuladas 150 días, mayor OD y mayor S₂₇₅₋₂₉₅ (que indica mayor transparencia y menor K_{dPAR}), además los grupos funcionales mayoritarios fueron A, C, N, E. En el cuadrante IV quedó el invierno donde la masa de agua se caracteriza por un mayor Zmix:Zeu y grupos funcionales P, X2 y D. A lo largo del eje 2 la mayor relevancia positiva la tuvo la temperatura, el COD, las formas de fósforo PRS, PDT, y los grupos funcionales Z, eSNCM, Lo e Y, caracterizando el cuadrante II correspondiente a los estratos superiores de los otoños y el verano, mientras que de forma negativa el CID, a*350, sílice y formas de nitrógeno NDT, NOD, NT y NO₃, las masas de agua que se caracterizaron fueron las de los estratos inferiores de los otoños y verano. En este sentido las masas de agua son muy diferentes en cuanto a caracterización durante el año y respecto a los grupos funcionales predominantes.

En el eje 1, la mayor contribución de las variables estuvo dada por las precipitaciones acumuladas, la estabilidad térmica (SSI), el nivel del agua, siendo más relevantes las variables

ambientales y físicas; mientras que en el eje 2 la mayor contribución estuvo dada por la temperatura, la cantidad de luz y el CID.

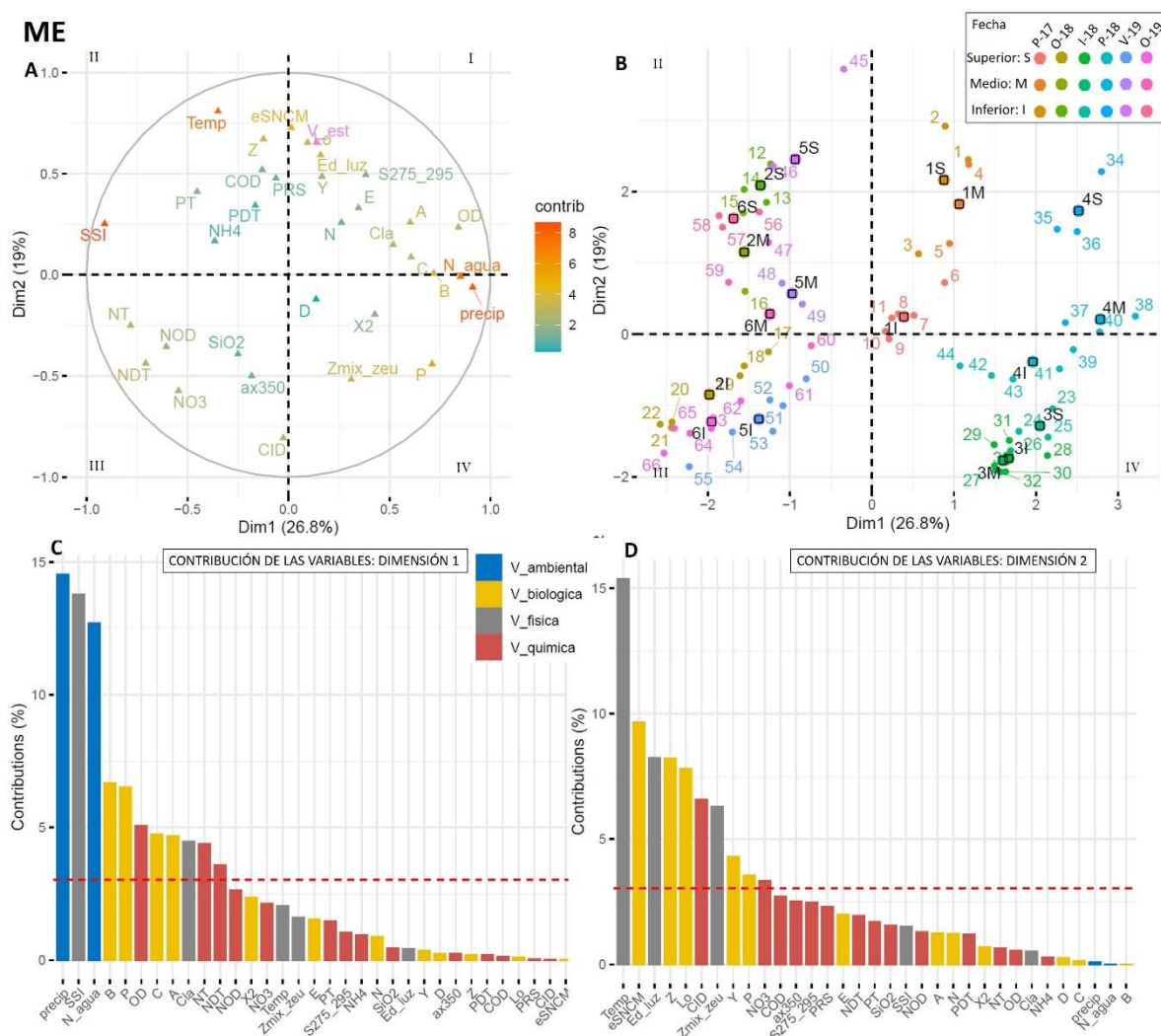


Figura III.9. A: Análisis de factores múltiples y variables discriminantes con el círculo de correlación en el caso del lago Moreno Este (ME). B: Ordenación de las muestras. C y D Contribuciones de las variables a las dos primeras dimensiones del MFA (Dim-1: C; Dim-2: C), las variables importantes tienen contribuciones superiores a la línea punteada roja. Referencias: N_agua (nivel del agua), Precip (precipitaciones acumuladas 150 días), V_estrato (volumen del estrato), OD (oxígeno disuelto), SSI (estabilidad térmica), Temp. (temperatura), Ed_luz (irradiancia en la columna de agua), COD (carbono orgánico disuelto), CID (carbono inorgánico disuelto), Ed_luz (intensidad de la luz en la columna de agua), Cla (clorofila a), PRS (fósforo reactivo soluble), PT (fósforo total), PDT (fósforo disuelto total), NH₄ (amonio), NO₃ (nitrato), NT (nitrógeno total), NOD (nitrógeno orgánico disuelto), NDT (nitrógeno disuelto total), SiO₂ (sílice disuelto), Zmix:Zeu (relación capa mezcla y capa iluminada), GF: N, Lo, eSNCM, A, X2, B, P, C, Y, E, D, Z.

En cuanto al MO el primer eje explicó un 25,7% de la varianza mientras que el segundo eje un 16,8% de la varianza explicando un 42,5% del total de la variación. La mayor contribución al primer eje estuvo dada por las precipitaciones acumuladas (variable ambiental), la estabilidad térmica (variable física), el OD (variable química) y la relación $Z_{mix}:Z_{eu}$ (variable física), además las variables biológicas de grupos funcionales fueron A, P, N y X2 (Figura III.10C). Por otra parte, la mayor contribución al segundo eje estuvo dada por el nivel del agua y las precipitaciones acumuladas, ambas variables de tipo ambiental, seguido por la luz en la columna de agua, y temperatura (variables físicas) (Figura III.10D). Además, el primer eje estuvo caracterizado negativamente con mayor estabilidad térmica y positivamente con mayor mezcla $Z_{mix}:Z_{eu}$, mayor OD y mayor precipitación acumulada, quedando separados en el primer cuadrante la primavera 2018, entre el cuadrante I y el II la primavera 2017, y luego entre el cuadrante II y III la época de mayor estratificación, el verano y los otoños. El cuadrante IV incluyó completamente al invierno (Figura III.10B), época donde la mezcla fue máxima y este estuvo caracterizado por un mayor $Z_{mix}:Z_{eu}$, mayores valores de clorofila, y la comunidad biológica caracterizada por los grupos funcionales P y B. Mientras que en la primavera 2018 se caracterizó por mayores precipitaciones, mayor OD y la comunidad biológica con mayor contribución de los grupos funcionales A, N y X2. La primavera 2017 estuvo caracterizada por mayores niveles de agua, de intensidad de luz, de volumen en los estratos y carbono orgánico disuelto, caracterizándose la comunidad biológica por los grupos funcionales Y, Lo y eSNM. en tanto que las muestras del estrato superior se agruparon para la época de mayor estratificación, tanto las del primer otoño como las del verano por mayores valores de fósforo (PRS, TDP, TP), mayores temperaturas, NH_4 , SiO_2 y de grupos funcionales Z. Por último, las muestras correspondientes al otoño 2019 se caracterizaron por grandes concentraciones de NO_3 , NT, NDT, NOD, CID, a_{350} y NOD.

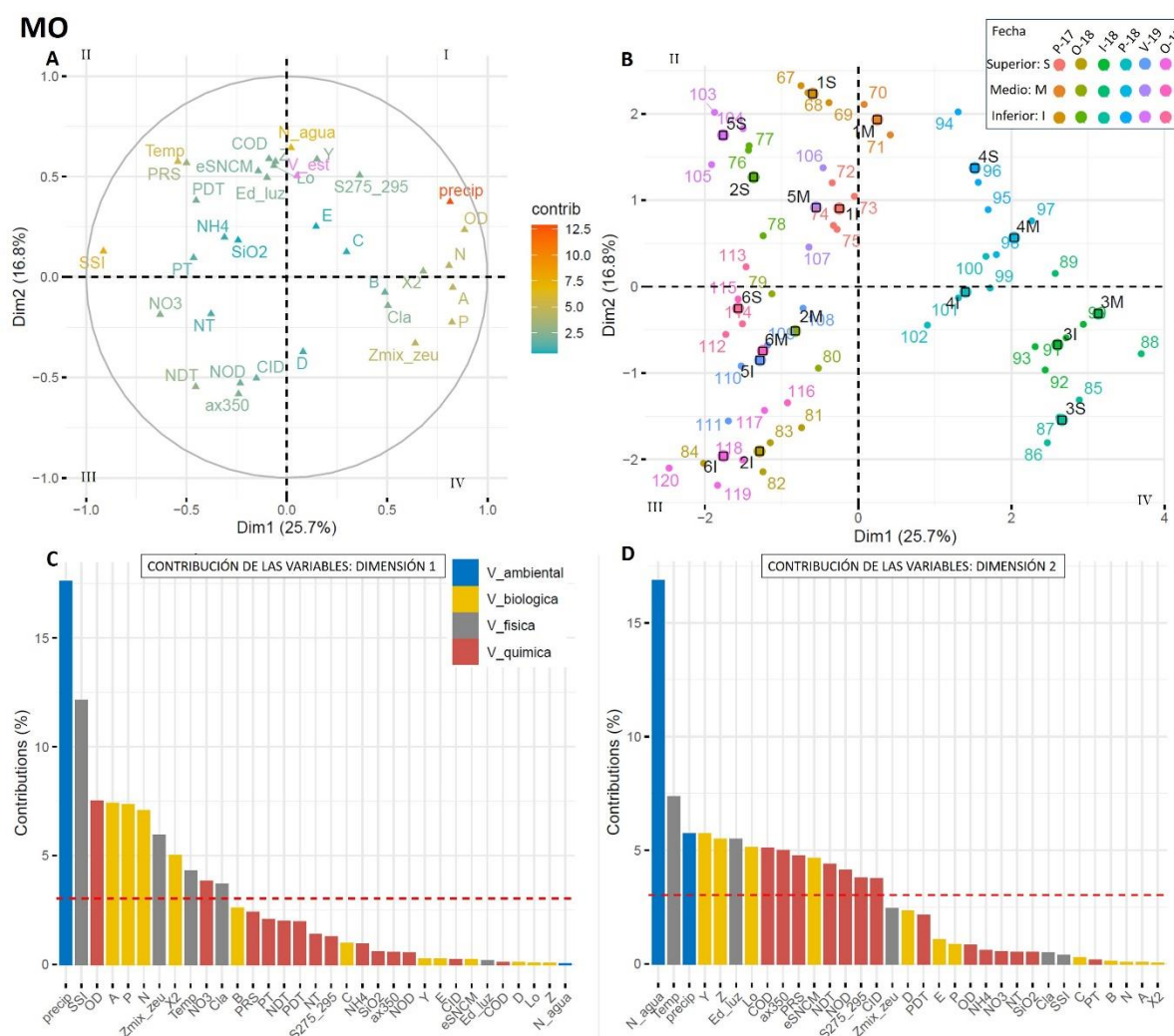


Figura III.10. A: Análisis de factores múltiples y variables discriminantes con el círculo de correlación en el caso del lago Moreno Oeste (MO). B: Ordenación de las muestras. C y D Contribuciones de las variables a las dos primeras dimensiones del MFA (Dim-1: C; Dim-2: D), las variables importantes tienen contribuciones superiores a la línea punteada roja. Referencias: N_agua (nivel del agua), Precip (precipitaciones acumuladas 150 días), V_estrato (volumen del estrato), OD (oxígeno disuelto), SSI (estabilidad térmica), Temp. (temperatura), Ed_luz (irradiancia en la columna de agua), COD (carbono orgánico disuelto), CID (carbono inorgánico disuelto), Ed_luz (intensidad de la luz en la columna de agua), Cla (clorofila a), PRS (fósforo reactivo soluble), PT (fósforo total), PDT (fósforo disuelto total), NH₄ (amonio), NO₃ (nitrato), NT (nitrógeno total), NOD (nitrógeno orgánico disuelto), NDT (nitrógeno disuelto total), SiO₂ (sílice disuelto), Zmix:Zeu (relación capa mezcla y capa iluminada), GF: N, Lo, eSNCM, A, X₂, B, P, C, Y, E, D, Z.

III.4 Discusión

El análisis pormenorizado llevado a cabo en este capítulo muestra que a pesar de las similitudes compartidas a escala de paisaje entre los dos cuerpos de agua estudiados (incluyendo el origen,

geología, posición en el paisaje, cubierta vegetal de sus cuencas y el clima regional), estos pueden presentar similitudes y diferencias distintivas en sus comunidades fitoplanctónicas. Este estudio mostró una importante dinámica en las abundancias, composición de especies, biomasa y grupos funcionales a lo largo del tiempo y dentro de la columna de agua de ambos lagos. Esto evidencia la interacción de procesos que actúan conjuntamente a escalas regionales e individualmente dentro de los lagos y que dan forma a la comunidad fitoplanctónica.

Los resultados obtenidos en la presente Tesis son comparables con los estudios previos que analizaron a la porción iluminada (~25 m: epilimnion (Díaz et al., 1998); ~50 m: epilimnion + metalimnion y porción superior del hipolimnion (Modenutti et al., 1997; Pérez et al., 2002; Queimaliños et al., 1999, 2002; Queimaliños & Díaz, 2014). En esta porción de la columna de agua la mayoría de las especies descritas para estos lagos, o bien lagos andinos patagónicos, siguen presentes al día de hoy. Aunque como todo sistema natural, se encontraron algunos cambios en la composición y/o contribución de ciertas especies. Así, los ensambles que se establecieron en ambos lagos durante el presente estudio registraron una composición diferencial en el eje vertical acorde con el escenario lumínico. Se observó también, dado el diseño experimental del estudio, una sucesión estacional que complejizó considerablemente el análisis de esta comunidad. Sin embargo, ciertos patrones generales se identificaron respecto a lo que se conocía previamente de las comunidades fotótrofas de estos lagos.

En línea general, se encontró una mayor dominancia de la diatomea *T. fenestrata* dominando o co-dominando en los ensambles de tres estratos en ambos lagos. Esta especie había sido previamente reportada para estos lagos, junto con otras diatomeas sin contribuir de manera significativa a la abundancia fitoplanctónica. Sin embargo, en este trabajo y en contraposición con lo previamente reportado, *T. fenestrata* aportó, junto a *S. araucanus*, significativamente a la biomasa epilimnética durante los periodos de estratificación.

En coherencia con los estudios previos, el grupo funcional eSNCM, compuesto por los ciliados mixotróficos de *S. araucanus* y *O. naumanii*, exhibió máximos en la parte iluminada de estos lagos, coincidiendo con lo reportado por Woelfl & Geller (2002), Modenutti et al (1997), Queimaliños et al. (1999, 2002), entre otros. Además, y al igual que lo observado por dichos trabajos, estos ciliados mixotróficos constituyeron de manera significativa a la biomasa. Estudios en lagos norpatagónicos chilenos observaron que la distribución vertical de *S. araucanus* dentro de los primeros 20 metros tiene una clara zonación vertical desde la primavera hasta el otoño (Woelfl & Geller, 2002). Estos resultados coinciden con la variación temporal observada en este trabajo y con observaciones realizadas en otros lagos templados como por ejemplo el lago Ontario y el lago Taupo en Nueva Zelanda (James et al., 1995). La zonación vertical observada en este trabajo responde a lo reportado por Modenutti et al. (1998b, 2008), puesto que observaron que *Stentor araucanus* es resistente a la irradiación de rayos UV-B (permitiendo establecerse en el epilimnion donde se encuentra expuesto a altas irradiancias). Woelfl y Geller (2002) reportaron que las *Chlorella* endosimbiontes no parecen estar limitadas por la disponibilidad de nitrógeno, ni de fósforo, y pueden alternar modos de nutrición, siendo predominante el modo autotrófico desde finales del otoño, invierno y principios de la primavera, y el modo heterotrófico durante finales de la primavera y el verano (Modenutti et al., 2008). Esta alternancia entre modos de nutrición de *Stentor araucanus* le confiere ventajas por sobre el fitoplancton libre, que en contraste muestra limitaciones en la disponibilidad de ambos nutrientes (y en el caso particular de las diatomeas también podría existir limitación por SiO₂). En tal sentido, queda claro que las condiciones específicas de estratificación, con baja disponibilidad de nutrientes (especialmente durante el otoño), combinadas con condiciones favorables de luz, crean un ambiente propicio para el desarrollo y la proliferación del grupo funcional eSNCM en estos lagos.

En lo que respecta a los dinoflagelados (GF Lo), distintos trabajos resaltaron su importancia a la biomasa en el DCM de lagos andino-patagónicos, siendo *G. paradoxum* y *G. uberrimum* los más representativos de este grupo (p.e. Queimaliños et al., 2002). Esta condición se mantuvo en el presente trabajo, pero los mismos no fueron encontrados en grandes abundancias, sino más bien como especies acompañantes. Sin embargo, si se mantuvo que presentaron sus mayores biomásas en los estratos superior y medio, especialmente durante los períodos de estratificación. Se sabe que los dinoflagelados prefieren las aguas metalimnéticas iluminadas (estrato medio), puesto que tienen habilidad para explotar las condiciones de luz tenue y baja exposición a luz UV. Esto caracteriza las capas medias (30-40m) de los lagos profundos oligotróficos (Pérez et al., 2002, Queimaliños et al., 2002). En relación con el desarrollo de los dinoflagelados en cada lago estudiado, se observó que en el lago ME la biomasa de *G. paradoxum* en el estrato metalimnético fue mayor cuando el desarrollo de *T. fenestrata* fue menor. En contraste, en el MO donde *T. fenestrata* tuvo un mayor desarrollo, el GF Lo contribuyó en menor medida a la biomasa. Estos resultados podrían estar indicando una competencia de recursos entre estos dos grupos. En este sentido, los resultados son coherentes con los del análisis comunitario. El lago ME resultó más equitativo, menos dominante y con una mayor diversidad que el lago MO. Y esto es aún más intrínseco a la dinámica de cada lago en particular. En el Capítulo II, se resaltó la marcada nitraclina (siendo el NO_3 un recurso sumamente importante para el fitoplancton libre) y el *upwelling* de nutrientes que ocurre en invierno. En este sentido, el ME tiene un mayor desarrollo de nitraclina, y más nutrientes disponibles. Entonces, basándonos en la teoría de principios de competencia de recursos propuestos por Reynolds (1997) y Tilman (1982), "a medida que aumenta la disponibilidad de recursos, la comunidad fitoplanctónica tiende a ser más diversa y equitativa"; durante la mezcla de invierno se homogeneizaron las concentraciones de nutrientes en toda la columna de agua, en especial del nitrato acumulado en el hipolimnion (durante la estratificación) quedando

biodisponibles para los estratos superiores, y conforme los recursos se utilizaron, en los estratos superiores se observó el aumento en la biomasa de ambos lagos.

La sucesión observada de diatomeas y dinoflagelados podría explicarse en función de los cambios en la concentración de nitrato y alinearse con los rasgos ecológicos definidos por Margalef (1978). Donde las diatomeas están respondiendo de manera más eficiente a cambios en la disponibilidad de nitrógeno, siendo más exitosas en ambientes donde el nitrógeno puede ingresar rápidamente por turbulencia (Levitan et al., 2015; Smith et al., 2019). Un estudio llevado a cabo en ecosistemas marinos encontró que la competencia diatomeas-dinoflagelados responde fuertemente a cambios en las concentraciones de nutrientes, y la amplitud de las respuestas se encuentra modificada por la temperatura. En particular, los dinoflagelados resultan mejores competidores en regímenes de altos nutrientes y temperaturas (en este caso bahías y costas eutrofizadas) (Bi R. et al., 2021). Sin embargo, resta mucho por estudiarse para comprender mejor los procesos que dan forma a la competencia entre estos dos grupos en los lagos andino-patagónicos. Por ejemplo, Morabito et al. (2012) describió que si bien *T. fenestrata* ha sido múltiples veces caracterizada como una especie indicadora de ambientes mesoeutróficos/eutróficos, esto podría no ser tan así, e incluso si comparamos con los resultados obtenidos en el Capítulo II, la concentración de nutrientes de estos lagos sigue siendo característica de oligotrofia.

Continuando con los resultados observados, y en coincidencia con los estudios previos (Callieri et al., 2007; Modenutti et al., 2000; Queimaliños et al., 1999, 2002, entre otros), se encontró durante la estratificación en los estratos superiores y medios, la presencia predominante del grupo funcional Z conformado por *Synechococcus* spp. Esta especie tienen la capacidad de utilizar diferentes fuentes de nutrientes, confiriéndoles una mayor adaptabilidad y eficiencia en la competencia por los recursos, además diversos estudios reportaron que presenta la mayor diversidad de pigmentos dentro de los autótrofos, lo que permite a estos organismos ocupar

una amplia gama de nichos de luz en diferentes hábitats acuáticos (Callieri et al., 2022; Farrant et al., 2016; Grébert et al., 2018; Six et al., 2007). Las picocianobacterias ricas en ficoeritrina se encuentran a menudo en aguas claras y oligotróficas donde está disponible la luz verde y azul-verde. En consecuencia, *Synechococcus* spp. generalmente prospera en las capas cercanas a la superficie de los océanos, en aguas costeras y lagos, donde está disponible la luz verde y azul-verde (p.e. Śliwińska-Wilczewska et al., 2020; Stomp et al., 2007, entre otros), resultados coincidentes con los observados en nuestro estudio. Esto resulta particularmente ser una ventaja competitiva en ambientes oligotróficos. Además, se ha observado que *Synechococcus* spp. puede establecer cooperación simbiótica con otros organismos, lo que también puede contribuir a su éxito en ambientes con disponibilidad limitada de nutrientes (Callieri et al., 2021; Christie-Oleza et al., 2015).

En línea con la sucesión estacional, durante la mezcla de invierno se encontró un cambio del escenario, caracterizado por una gran presencia de diatomeas. En particular, el invierno se caracteriza por baja intensidad lumínica, mayor atenuación de la luz (K_d_{PAR}) y mayor liberación de nitrato del fondo (Capítulo II). Si bien la mayoría de los estudios previos de las comunidades fotótrofas en estos lagos se realizaron en el marco de la estratificación (primavera-verano-otoño), el trabajo de Diaz et al. (1998), contempló un estudio anual del epilimnion (hasta ~25 m) del lago Nahuel Huapi. Este estudio permitió comparar la dinámica temporal de los distintos grupos taxonómicos y su contribución a la biomasa total fitoplanctónica. Durante el invierno, Diaz et al. (1998) reportaron que las diatomeas contribuyeron en aproximadamente el 90% de la biomasa, siendo los porcentajes similares a los que encontrados en la presente Tesis durante el invierno. Cloern & Dufford (2005) encontraron que las diatomeas responden rápidamente a eventos de mucha luz y disponibilidad de nutrientes lo que se reflejó en su importante contribución a la biomasa fitoplanctónica. Smayda (1997), entre otros autores, encontraron que las diatomeas exhiben altas tasas de crecimiento, lo que contribuye aún más a

su dominancia en la comunidad. Estos hallazgos coinciden con estudios anteriores en otros lagos del mucho, que han documentado la dominancia de *T. fenestrata* junto con *F. crotonensis* en los lagos Walensee y Greifensee en invierno y primavera. Esta dominancia puede explicarse dado que las diatomeas grandes tienen una tasa de crecimiento máxima en concentraciones bajas de fosfato y poca disponibilidad luz (Mieleitner et al., 2008), en los lagos Morenos las concentraciones de P resultan bajas y en invierno la disponibilidad de luz es menor. Además, las tasas de crecimiento pueden ser más altas bajo el suministro de nitrato, especialmente para algunas especies de diatomeas (Dortch, 1990; Levasseur, 1993; Litchman et al., 2007).

La importancia de la mezcla en el establecimiento de distintos periodos en la sucesión y el desarrollo de la comunidad fotótrofa coinciden con lo reportado por Salmaso (2002). Este autor encontró en el Lago Garda (Italia) una alta contribución a la biomasa por parte de las diatomeas, lo que lo llevó a denominarlas “*master species*”, dado que su desarrollo anual regular caracterizaba al lago por sobre las restantes especies presentes. Esta regularidad temporal y espacial surgen de la alta estabilidad y resiliencia que caracterizan a los lagos y grandes y profundos. En este estudio, se pueden reconocer en los lagos estudiados al menos tres GF que podrían conformar estas “*master species*” (considerando su contribución y regularidad). En primer lugar, el GF N mayormente conformado por *T. fenestrata*. Esta especie, respecto de los estudios previos realizados en los lagos Moreno y en otros lagos de la zona, no era una especie fundamental de los ensambles. Sin embargo, los resultados de este estudio resaltan la importancia esta especie y su contribución a la biomasa total de ambos lagos, ya que se encontró durante todos los muestreos como GF dominante o bien co-dominante. Por supuesto, que sería necesario estudiar más **cómo** se desarrollan los ensambles futuros, ya que podría dar indicios de *drivers* que podrían estar influyendo en la dinámica de ensambles de este trabajo particular. Respecto a los otros grupos con contribución y regularidad relativamente constante, tanto el GF eSNCM como el Z (*Synechococcus* spp.) se caracterizaron por desarrollarse en el

epilimnion y parte del metalimnion durante la época de estratificación de ambos lagos. Estos resultados son coincidentes con lo reportado en los primeros estudios realizados en estos lagos (Callieri et al., 2007; Modenutti et al., 2000; Queimaliños et al., 1999, 2002, entre otros). Por último, el GF Lo, a pesar de los cambios mencionados en cuanto a su contribución, sigue siendo importante en los ensambles de los lagos estudiados.

En los sistemas naturales existen múltiples factores que pueden llevar a cambios en la composición de especies. En el caso de estos lagos, dado que se encuentran poco perturbados, resulta relevante considerar cómo es el acoplamiento fitoplancton-zooplancton. El zooplancton herbívoro afecta al fitoplancton directamente por el pastoreo, e indirectamente al aumentar la disponibilidad de nutrientes mediante procesos de reciclado (Sterner, 1986). Dentro del fitoplancton existen diversas estrategias que pueden evitar o disminuir el pastoreo por parte del zooplancton. En este sentido *T. fenestrata* (N), *F. crotonensis*, *A. granulata* (C), *A. formosa* (C) y *U. eriensis* (A), tienen una morfología que permite que se establezca un volumen "virtual" que las hace más inaccesible a ser pastoreadas (Figura III.1). Sin embargo, en la presente tesis no se llevó a cabo un estudio conjunto del fitoplancton y el zooplancton que podría explicar con mayor detalle la importancia del pastoreo sobre la estructura y dinámica de la comunidad fotótrofa.

La regulación de la composición taxonómica de la comunidad fotótrofa puede también deberse a cambios en las relaciones de nutrientes, ya que los integrantes de esta comunidad pueden presentar múltiples adaptaciones y linajes evolutivos/ adaptativos con distintas estrategias de todo tipo permitiendo el uso diferencial de los nutrientes. Así, un cambio en las fuentes de nitrógeno puede alterar la composición de la comunidad fitoplanctónica a través de la competencia por los recursos (Sommer, 1985; Tilman, 1977). Varios estudios de campo han demostrado que las formas de nitrógeno pueden cambiar la abundancia relativa de las diatomeas y las cianobacterias (Hutchins et al., 2003; McCarthy et al., 2009), así como también

la contribución relativa de las crisofíceas y de los dinoflagelados a la biomasa fitoplanctónica total (p.e. Berg, et al., 1997; Fan et al., 2003a).

En el caso particular de las diatomeas, se ha visto el papel clave del sílice en la selección de diferentes ensambles. El escurrimiento relacionado con las precipitaciones puede ser responsable de cambiar la proporción de nutrientes en el agua del lago (Kilham et al., 1996) y, en particular, la mayor disponibilidad de SiO_2 puede favorecer un cambio en la composición de especies hacia taxa con mejor desempeño en alto contenido de este nutriente.

Un evento estocástico natural que podría haber alterado la composición de nutrientes y llevado a una ventaja para el desarrollo de las diatomeas por sobre los dinoflagelados, es la erupción del volcán Puyehue-Cordón Caulle en el año 2011. En particular, los lagos pedemontanos, acumularon material volcánico y tuvieron un tiempo de retención más prolongado. Se observó un incremento de los sólidos totales suspendidos, de la extinción de la luz, de la concentración de fósforo y la biomasa fitoplanctónica (Balseiro et al., 2014; Modenutti et al., 2013). En recuentos de microscopio de muestras del 2014 de los lagos Moreno, que no se presentan en esta Tesis, se observó la presencia mayoritaria de *Discostella stelligera* (grupo funcional B), otra diatomea que se encontró en bajas abundancias durante el presente estudio. En un estudio de la sucesión de las diatomeas en el lago Maggiore (Morabito et al., 2012), se observó que el cambio en la disponibilidad de SiO_2 parece ser la causa del desplazamiento de *D. tenuis* por *Tabellaria flocculosa*. Debido a que *D. tenuis* es un buen competidor por el Sílice, pero un competidor pobre por el P, mientras que lo contrario es cierto para *T. flocculosa* (Tilman et al., 1982). En tal sentido, podríamos estar evidenciando una sucesión similar de especies de diatomeas en los lagos estudiados.

Limitación lumínica y patrones estacionales de biomasa fitoplanctónica

Uno de los factores ecológicos más importantes que regulan los ecosistemas acuáticos es la intensidad y composición espectral de la luz (Kirk, 1994; Huisman & Weissing, 1995; Mur & Schreurs, 1995). Como se analizó en el Capítulo II, la zona eufótica estuvo entre 28 a 38 m (dependiendo de la fecha de muestreo), abarcando el epilimnion y metalimnion, al igual que ocurre en otros lagos profundos y oligotróficos p.e. de Nueva Zelanda (Bayer et al., 2016; Hamilton et al., 2010) y de Patagonia (Baigún & Marinone, 1995; Callieri et al., 2007; Modenutti et al., 2013; Pérez et al., 2002). Por lo tanto, la luz es más que suficiente para el crecimiento del fitoplancton en la capa metalimnética mientras los lagos se encuentran estratificados, explicando la frecuente formación de DCM en estos lagos. Por lo general, el enfoque tradicional en el estudio de lagos profundos se centra únicamente en los estratos superficiales (o hasta la profundidad del 1% de la luz incidente en superficie), dejando de lado la comprensión de la dinámica comunitaria en las capas más profundas.

Nuestros hallazgos respaldan un desarrollo fitoplanctónico que trasciende los límites del Z1%, especialmente durante épocas estratificadas y en la primavera. Puesto que, si bien hay un gran desarrollo en toda la columna de agua durante el invierno, la mezcla de la columna de agua (holomixis) podría estar explicando lo observado. Pero esto no puede explicar el desarrollo de la comunidad fotótrofa en profundidad en ambos lagos durante la estratificación. En línea con estos resultados, un estudio en el océano investigó la relación entre el Z1% y el punto de compensación, encontrando que este último se subestima mientras que el Z0,1% se sobrestima (Wu et al., 2021). En los lagos estudiados, el Z1% osciló entre 28 y 38 metros, mientras que el Z0,1% lo hizo entre 42 y 58 metros, donde en general se encontraron los máximos de biomasa. La presencia de fitoplancton activo en los estratos profundos (definido de manera tal por encontrarse con sus plastos organizados) da indicios de las múltiples especies que tienen capacidad de adaptarse mejor a la luz tenue y aprovechan así los nutrientes disponibles.

Los registros replicados espacialmente permiten evaluar la sincronía, es decir, si los cambios de la comunidad a través de diferentes sitios son temporalmente coherentes (Pace & Cole, 2002). Las especies a lo largo de un paisaje pueden responder de manera correlacionada al cambio ambiental (por ejemplo, si las condiciones limnológicas están vinculadas a las fluctuaciones climáticas a gran escala). Los ensambles que se conforman durante la estratificación se ven favorecidos por las mayores temperaturas e iluminación, motivo por el cual se encuentra sincronía entre lagos para estos grupos. Mientras que los GF de invierno y primavera, que dependen del *upwelling* de nutrientes y la turbulencia de la mezcla se observan asincrónicos entre lagos, dado que existe una marcada diferencia entre lagos en la estabilidad térmica (**Capítulo II**). Estos resultados confirman nuestras hipótesis, la mayor biomasa fue encontrada en el MO, que como se destacó en el Capítulo II, recibe el aporte de nutrientes más procesados desde el ME por su ubicación aguas abajo. Los patrones encontrados a lo largo de este estudio de la comunidad fotótrofa resultaron ser ampliamente consistentes con las diferencias específicas de los grupos en cuanto a rasgos de utilización de la luz (Richardson et al., 1983; Schwaderer et al., 2011) y las preferencias de hábitat en términos de condiciones de mezcla (Litchman, 1998; Richardson et al., 1983). Los resultados descritos más arriba para los distintos grupos funcionales validan nuestra segunda hipótesis ya que los grupos se distribuyeron de acuerdo con sus respectivos rasgos particulares.

Por último, si bien los resultados obtenidos en esta Tesis no pueden atribuirse a efectos del cambio climático, la intensificación de los efectos directos e indirectos del calentamiento climático (Rühland et al., 2015) probablemente terminen influyendo directamente en la sucesión. Ante el aumento de la temperatura, se ha observado en lagos profundos eventos de mezcla incompleta, afectando directamente a la oxigenación y liberación de nutrientes, y en consecuencia a toda la trama de productores primarios que depende de la liberación de nutrientes para su desarrollo (p.e. Bohrer et al., 2017; Bohrer & Schultze, 2008).

CAPÍTULO IV

Los pigmentos fitoplanctónicos y espectros de absorción como variables claves para la estimación de la composición taxonómica de la comunidad



IV.1 Introducción

El fitoplancton es una pieza fundamental del ecosistema acuático y como se mencionó anteriormente, esta comunidad (incluyendo a otros organismos fotótrofos) se ve notablemente afectada por los cambios climáticos. Su sensibilidad, rápida respuesta y capacidad de reflejar, incorporar e integrar cambios ocurridos en su cuenca de drenaje y en la atmósfera circundante, hace que resulten buenos indicadores del cambio ambiental (Adrian et al., 2009; Williamson et al., 2008). Haciendo que el estudio de la comunidad fitoplanctónica resulte esencial para conocer el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos tanto a escalas locales (p.e. lagos) como globales (océanos). Ya que de esta forma se puede estudiar y comprender su respuesta ante escenarios de cambio ambiental (cambio climático, eutrofización, acidificación, etc.). Brindando información clave para proyectar, manejar y mitigar los cambios en los ecosistemas terrestres (Eker-Develi et al., 2022; Henson et al., 2021; Winder & Sommer, 2012). En tal sentido, resulta preciso contar con herramientas que permitan estudiar las respuestas de los lagos al cambio climático global y a los distintos impactos directos de las actividades humanas a escalas espacio-temporales adecuadas.

Tradicionalmente, las formas más comunes de estudiar las comunidades fitoplanctónicas son a través de la evaluación de sus cambios en la concentración de clorofila *a* (como estimador de la biomasa), y el estudio de su composición taxonómica y/o su estructura de tamaño (**Capítulos II y III**). En particular, los estudios detallados de la comunidad fitoplanctónica realizados bajo microscopio son costosos en términos de tiempo y de la necesidad de recursos humanos especializados. Esta limitación dificulta que se lleven a cabo estudios por largos periodos temporales, con altas frecuencias y en múltiples lagos dentro de una región específica.

A su vez, las escalas involucradas en los cambios ambientales requieren de la obtención de datos con una alta frecuencia espacio-temporal la cual no es suficientemente cubierta por los

tradicionales muestreos a campo que resultan en estudios de la comunidad fitoplanctónica limitada a unos cuantos puntos en un cuerpo de agua.

Es por esto por lo que una metodología muy utilizada que se complementa con los recuentos es la determinación de los pigmentos fitoplanctónicos por HPLC. Numerosos trabajos han demostrado la utilización de los pigmentos para describir la composición taxonómica (Descy et al., 2000; Mackey et al., 1996; Schlüter et al., 2006; Wang et al., 2021) o estructura de tamaño de la comunidad fitoplanctónica en ambientes continentales y marinos (Hirata et al., 2008; Uitz et al., 2006; Vidussi et al., 2001). Esta técnica resulta más rápida y en algunos casos más precisa que el análisis bajo microscopio para determinar grupos taxonómicos (clases), grupos funcionales y fracciones de tamaño (micro, nano y pico). La justificación de la utilización de los pigmentos fitoplanctónicos para determinar la composición y la estructura de tamaño de la comunidad radica en que ciertos pigmentos pueden ser asignados a un grupo fitoplanctónico en particular. Sin embargo, si bien existen algunos marcadores inequívocos para algunas clases de fitoplancton (p.e. peridina en dinoflagelados) muchos pigmentos son compartidos por más de un taxón de algas (p.e. fucoxantina en diatomeas, cromistas y nanoflagelados) (Roy et al., 2011). A pesar de estas limitaciones, las proporciones de las concentraciones de pigmentos específicos respecto a la Cla proporcionan una indicación útil de las contribuciones de ciertas clases de fitoplancton en una población mixta, puesto que estas proporciones pueden diferir entre grupos taxonómicos. De todas formas, esta técnica que utiliza los pigmentos fitoplanctónicos sigue requiriendo un tiempo significativo para su procesamiento y determinación, así como mano especializada, instrumentación específica, insumos y estándares de pigmentos para su calibración.

En contraposición, la estimación óptica de la comunidad fotótrofa (por medidas de absorción, fluorescencia y reflectancia) es una metodología que permite la obtención de datos con una alta frecuencia (Ling et al., 2018; Uitz et al., 2015; Xi et al., 2015). En particular, la argumentación

para usar los espectros de absorción del fitoplancton para estimar la composición taxonómica o estructura de tamaño de una comunidad de fitoplancton radica en que las diferentes especies de fitoplancton tienen pigmentos accesorios diferentes que absorben luz en distintas longitudes de onda. Al medir los espectros de absorción de los pigmentos dentro de las células es posible identificar los grupos taxonómicos presentes en la comunidad (Martínez-Guijarro et al., 2009; Organelli et al., 2017; Zhang et al., 2018) o la floración de una especie fitoplanctónica en particular (Leong & Taguchi, 2006; Millie et al., 2002). Así mismo, la firma espectral del fitoplancton también da información de la estructura de tamaño de la comunidad, relacionándose esta con la pendiente espectral del espectro de absorción (Hirata et al., 2008). Por otro lado, dado que la absorción del fitoplancton contribuye a la reflectancia de la luz en los sistemas acuáticos, esta puede ser medida remotamente con satélites multiespectrales e hiperespectrales, permitiendo registrar la comunidad fitoplanctónica en grandes áreas oceánicas y lacustres. Sin embargo, el solapamiento de los distintos pigmentos y el efecto de empaquetamiento (debido a cambios en el tamaño celular y/o a cambios en la concentración intracelular de pigmentos como respuesta a la fotoaclimatación) pueden actuar conjuntamente dificultando la descripción de la comunidad fitoplanctónica. En tal sentido, la interpretación de la información contenida en los espectros de absorción parece ser un factor clave para lograr modelos predictivos robustos.

Si bien en los últimos años la obtención de datos de la comunidad fitoplanctónica por modelos ópticos ha crecido exponencialmente, la gran mayoría de los trabajos de investigación se han enfocado en ambientes marinos pelágicos o costeros. Con la excepción de la detección de floraciones algales en lagos por sensores remotos (p.e. Binding et al., 2020; Rolim et al., 2023), existe un espacio vacío en la estimación óptica de la composición taxonómica, o estructura de tamaño de la comunidad fitoplanctónica en aguas continentales.

En tal sentido, en objetivo principal de este Capítulo fue explorar la utilización de pigmentos algales y espectros de absorción del fitoplancton para determinar la composición de especies y su variabilidad estacional en los lagos Moreno Este y Moreno Oeste. Para esto, se evaluaron modelos estadísticos de distinta complejidad utilizando regresiones lineales simples y múltiples, así como modelos de aprendizaje automático (distintos árboles de decisión).

Las hipótesis planteadas para este Capítulo son:

Hipótesis IV.1: Los pigmentos planctónicos pueden usarse individualmente o en conjunto para construir modelos óptico-pigmentarios que permiten estimar la composición taxonómica de la comunidad fotótrofa en los lagos estudiados.

Predicción: Los pigmentos planctónicos permitirán estimar la composición taxonómica de la comunidad fotótrofa en los lagos estudiados. Capturarán la variabilidad espacial (distintos lagos y profundidades) y temporal (distintas estaciones) observadas en base a los recuentos celulares realizados mediante microscopía y citometría de flujo.

Hipótesis IV.2: Los espectros de absorción fitoplanctónicos y de ciliados mixotróficos pueden usarse individualmente o en conjunto para construir modelos óptico-pigmentarios que permiten estimar la composición taxonómica de la comunidad fotótrofa en los lagos estudiados.

Predicción: Los espectros de absorción fitoplanctónicos y de ciliados mixotróficos evaluados con distintos niveles de complejidad, permitirán estimar la composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica en los lagos estudiados. Estos modelos capturarán la variabilidad espacial (distintos lagos y profundidades) y temporal (distintas estaciones) observadas en base a los recuentos celulares realizados mediante microscopía y citometría de flujo.

IV.2 Materiales y métodos

IV.2.1 Determinación de los espectros de absorción de la comunidad fotótrofa

A partir de las mediciones de los coeficientes de absorción de las sustancias particuladas totales, y de la materia particulada orgánica no viva (detrito) (ver sección II.2.4.5 del **Capítulo II**), se procedió a estimar la absorción por la fracción fotótrofa como:

$$a_f(\lambda) = a_p(\lambda) - a_d(\lambda)$$

donde $a_f(\lambda)$ es la absorción del fitoplancton y de otros organismos fotótrofos, $a_p(\lambda)$ es la absorción de las sustancias particuladas totales y $a_d(\lambda)$ es la absorción del detrito.

IV.2.2 Análisis de los pigmentos de la comunidad fotótrofa y procesamiento de los datos

Las muestras para el análisis por HPLC se obtuvieron a partir de la filtración de 3 L de agua de profundidades discretas por filtros Whatman GF/F de un tamaño de poro de 0,7 μm . Las concentraciones de Cla y de pigmentos accesorios (clorofilas, carotenos y xantofilas) se midieron utilizando un instrumento HPLC Delta 600 (Waters), con termostatizador de columna, arreglo de fotodiodos, *autosampler* y controlado por el programa Empower 2. Se utilizó una columna C8 (Symmetry, Waters, 150 x 4,6 cm, 3 μm tamaño de partícula, 10 μm tamaño de poro) siguiendo el método de Zapata et al. (2000). La identificación y la calibración de los cromatogramas se realizaron utilizando cultivos algales y estándares de pigmentos comerciales.

IV.2.3 Modelos predictivos

Para realizar las estimaciones de biomasa de la comunidad fotótrofa utilizamos como variables predictivas los coeficientes de absorción del fitoplancton a 6 longitudes de onda identificadas por medio de la derivada cuarta de los espectros de absorción (p.e, $a_f(435)$, $a_f(494)$, $a_f(540)$, $a_f(570)$, $a_f(625)$ y $a_f(675)$) Estos 6 coeficientes de absorción nos dan una idea de los cambios

en la amplitud en el espectro visible para cada muestra obtenida. Con el fin de adicionar también los cambios en la forma espectral en el análisis predictivo, y de manera independiente de los cambios de amplitud, realizamos todas las combinaciones posibles entre estos 6 coeficientes de absorción en forma de cocientes (p.e. $a_f(495)/a_f(435)$, ...). En este proceso no se consideraron los cocientes recíprocos. Así mismo, también se tuvieron en cuenta los coeficientes de absorción normalizados por el promedio espectral para las 6 longitudes de onda (ejem. $a_f(435)^n$, $a_f(494)^n$, $a_f(540)^n$, $a_f(570)^n$, $a_f(625)^n$ y $a_f(675)^n$). Estas variables son otra forma de evaluar los cambios en la forma espectral disminuyendo la importancia de la amplitud espectral. Se consideró también el promedio espectral entre los 400 y 700 nm para cada espectro (a_f mean) y la pendiente espectral fitoplanctónica (a_f -slope) como medidas explicativas. Por último y como variables predictivas auxiliares se utilizaron las variables lago (MO y ME), fecha (27/11/17, 13/04/18, 31/07/18, 31/10/18, 10/1/19 y 23/04/19), profundidad (0, 10, ...100 m) y estructura térmica (estratificado y no estratificado) en los modelos de aprendizaje automático, resultando en un total 29 variables predictivas. Las biomásas por estimar fueron: la biomasa total fitoplanctónica y la biomasa de los grupos Bacillariophyceae, Chlorophyta, Dinophyceae, Haptophyceae, Cryptophyceae y Cyanobacteria (picoplanctónicas, Pcy).

Antes de correr los distintos modelos predictivos se procedió a dividir al azar la serie total de datos ($n=109$) en un conjunto de calibración y uno de validación en una proporción 70-30%. El conjunto de calibración se utilizó para correr los modelos y el de validación para evaluar el desempeño de los mismo. Para cada grupo a estimar, la división al azar del set de datos en los conjuntos de calibración y validación se repitió varias veces y se analizó si los grupos resultantes eran homogéneos calculando la media y mediana de cada grupo resultante. Se escogió, en cada caso, el resultado que menor diferencia entre los grupos presentaba.

IV.2.4 Regresiones Lineales Múltiples

Se evaluaron distintos modelos de estimación de complejidad creciente. Los primeros modelos fueron las regresiones lineales múltiples (RLM). En estos modelos solo se utilizaron variables predictivas numéricas, excluyéndose variables categóricas como lago, fecha y estructura térmica. La RLM es una extensión de la regresión lineal simple que permite modelar la relación entre una variable objetivo y múltiples variables de entrada. En lugar de considerar una única variable de entrada, la regresión lineal múltiple utiliza múltiples variables independientes para predecir la variable objetivo. El objetivo de la regresión lineal múltiple es encontrar una ecuación lineal que mejor se ajuste a los datos de entrenamiento. El modelo de regresión lineal múltiple encuentra los valores óptimos para los coeficientes de regresión ($b_0, b_1, \dots, b_n$) mediante el uso de técnicas de optimización, como el método de mínimos cuadrados o el descenso de gradiente. Estos valores se determinan de tal manera que la suma de los errores al cuadrado entre los valores predichos y los valores reales sea mínima. Una vez que se han encontrado los coeficientes óptimos, el modelo puede utilizarse para hacer predicciones sobre nuevos datos. Dado un conjunto de valores de entrada ($x_1, x_2, \dots, x_n$), el modelo calculará la variable objetivo (y) utilizando la ecuación lineal. Es importante tener en cuenta que la regresión lineal múltiple asume una relación lineal entre las variables de entrada y la variable objetivo. Además, se deben cumplir ciertas suposiciones, como la independencia de los errores y la ausencia de multicolinealidad, para que los resultados sean válidos y confiables.

En nuestro caso se utilizó la metodología *Stepwise regression* (también conocida como selección de variables *Stepwise*) para seleccionar las variables más relevantes para el modelo y descartar las menos significativas. Su objetivo es encontrar un subconjunto óptimo de variables predictoras que expliquen mejor la variable objetivo. La regresión *Stepwise* se basa en un enfoque iterativo que incluye o elimina variables del modelo en función de su contribución estadística.

IV.2.5 Modelos de aprendizaje automático

Los modelos de aprendizaje automático predictivo se caracterizan por su capacidad para predecir la clase o valor de una variable objetivo a partir de un conjunto de variables predictoras. Estos modelos utilizan algoritmos de aprendizaje supervisado, que se entrenan con un conjunto de datos etiquetados para aprender a hacer predicciones precisas sobre nuevos datos (Crisci et al., 2012; Kelleher et al., 2020). Estos modelos de aprendizaje automático presentan varias ventajas en comparación con los modelos de regresión lineal múltiple. Algunas de las ventajas más destacadas son:

- A. Capacidad para capturar relaciones no lineales: Mientras que la regresión lineal múltiple asume una relación lineal entre las variables de entrada y la variable objetivo, los modelos de aprendizaje automático son capaces de capturar relaciones no lineales más complejas.
- B. Manejo de características de alta dimensionalidad: Los modelos de aprendizaje automático pueden manejar conjuntos de datos con un gran número de variables predictoras (alta dimensionalidad), algo que puede ser problemático en la regresión lineal múltiple.
- C. Robustez frente a supuestos: La regresión lineal múltiple se basa en ciertos supuestos, como la linealidad, independencia de errores y homocedasticidad. Si estos supuestos no se cumplen, los resultados de la regresión lineal pueden verse afectados. Por otro lado, los modelos de aprendizaje automático son menos sensibles a estos supuestos y pueden adaptarse a diferentes tipos de relaciones y estructuras de datos.
- D. Mejor rendimiento en conjuntos de datos complejos: Los modelos de aprendizaje automático suelen tener un mejor rendimiento en conjuntos de datos complejos y ruidosos. Estos modelos pueden manejar datos faltantes, valores atípicos y ruido en los datos de manera más efectiva.

Flexibilidad y versatilidad: Los modelos de aprendizaje automático ofrecen una amplia gama de algoritmos y técnicas, lo que brinda flexibilidad para abordar diferentes tipos de problemas de aprendizaje automático, como clasificación, regresión, agrupamiento, detección de

anomalías, entre otros. Además, permiten la combinación de diferentes modelos en ensambles, lo que puede mejorar aún más la precisión y el rendimiento.

Si bien los modelos de aprendizaje automático ofrecen estas ventajas, es importante tener en cuenta que también pueden ser más complejos de implementar y requerir un mayor poder computacional y recursos de datos en comparación con la regresión lineal múltiple. Además, la interpretación de los resultados puede ser más desafiante en modelos de aprendizaje automático más complejos.

Ejemplos de los modelos de aprendizaje más comunes son:

Regresión de vecinos más cercanos (K-NN): Este modelo se basa en la idea de que las muestras con características similares tienden a tener valores similares para la variable objetivo. El modelo K-NN encuentra los K vecinos más cercanos a una muestra de prueba y utiliza sus valores de variable objetivo para predecir el valor de la muestra de prueba.

Árboles de decisión: Los árboles de decisión son modelos que dividen el espacio de características en regiones más pequeñas y toman decisiones basadas en las características de entrada. Cada hoja del árbol representa una estimación o predicción. Los árboles de decisión pueden ser utilizados para problemas de regresión al predecir la variable objetivo en función de las características de entrada.

Máquinas de vectores de soporte (SVM): Originalmente diseñadas para problemas de clasificación, las SVM también se pueden utilizar para problemas de regresión. El objetivo es encontrar una función que se ajuste lo mejor posible a los datos y al mismo tiempo mantenga un margen máximo entre las muestras y la función de regresión.

Redes neuronales: las redes neuronales tienen la capacidad de aprender representaciones no lineales y complejas de los datos, lo que las hace adecuadas para abordar problemas difíciles y

de alta dimensionalidad. Además, las redes neuronales son capaces de realizar tanto regresión como clasificación, y se pueden utilizar en una amplia variedad de dominios.

En este estudio utilizamos 3 variantes de los árboles de decisión para realizar regresiones: *Random Forest* (RF), *Boosted Tree* (BT) y *XG Boost* (XGB) (Breiman, 2001; Chen & Guestrin, 2016; Pichler & Hartig, 2023). A continuación, se brinda un resumen de estos modelos de aprendizaje automático.

Random Forest es un método de aprendizaje supervisado que genera múltiples árboles de decisión sobre un conjunto de datos de entrenamiento. Cada árbol se entrena con una muestra ligeramente distinta de los datos de entrenamiento generada mediante *bootstrapping*. La predicción de una nueva observación se obtiene agregando las predicciones de todos los árboles. *Random Forest* es capaz de seleccionar predictores de forma automática y puede aplicarse a problemas de regresión y clasificación

Boosted Tree es un método de aprendizaje automático que combina múltiples árboles de decisión débiles para crear un modelo más fuerte. En lugar de generar múltiples árboles de decisión independientes, *Boosted Tree* construye un árbol de decisión a la vez, ajustando los pesos de las observaciones para que los errores se minimicen en cada iteración. *Boosted Tree* es capaz de manejar datos faltantes y puede aplicarse a problemas de regresión y clasificación

XGBoost es una implementación mejorada de *Boosted Tree* que utiliza una técnica de regularización llamada "*gradient boosting*". *XGBoost* ajusta los pesos de las observaciones y los árboles de decisión de manera más agresiva que *Boosted Tree*, lo que puede mejorar la precisión del modelo. *XGBoost* también puede manejar datos faltantes y puede aplicarse a problemas de regresión y clasificación.

Las diferencias en los valores promedios entre grupos de datos evaluados fueron analizadas aplicando ANOVAs (cuando se cumplían los supuestos de normalidad y Homocedasticidad), en casos de no cumplirlos se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal–Wallis (KW-ANOVA).

Para las regresiones lineales múltiples se utilizó el procedimiento *Stepwise* para elegir las variables explicativas y se revisó el valor VIF para controlar la colinealidad entre variables explicativas. Los modelos de aprendizaje automático se corrieron con el lenguaje R (R Core Team 2020) utilizando los paquetes randomforest, gbm, ranger, caret, xgboost y tidyverse. La evaluación del rendimiento de los distintos modelos predictivos se realizó mediante el cálculo del coeficiente de regresión (R^2), la pendiente de regresión, la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RMSE) y el error absoluto medio (MAE). Estos errores se calcularon como:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - x_i)^2}{N}}$$

$$MAE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|y_i - x_i|}{x_i}$$

donde N es el número de muestras de set de datos, x_i es el valor medido e y_i el estimado del parámetro a estudiar.

IV.3 Resultados

IV.3.1 Pigmentos fitoplanctónicos por HPLC

Se identificaron y cuantificaron un total de 13 pigmentos fitoplanctónicos con el método de Zapata et al. (2000) y el HPLC Delta 600 (Waters). La Figura IV.1 muestra un ejemplo de los cromatogramas obtenidos, donde se pueden identificar los principales pigmentos determinados: clorofila *c* (cloro. *c*), peridina (peri.), fucoxantina (fucox), violaxantina (violax.), diadinoxantina (diadinox.), dinoxantina (dinox), aloxantina (alox.), zeaxantina (zeax.), luteína (lut.), clorofila *b* (cloro. *b*), clorofila *a* alómero (cloro *a* all.), clorofila *a* (cloro *a*) y β -caroteno (β -carot.).

Se evaluó la variabilidad espacio-temporal de los pigmentos accesorios fitoplanctónicos en relación con la descripción de la abundancia y del biovolumen de la comunidad obtenidos a partir de los recuentos bajo microscopio y por citometría de flujo (**Capítulo III**).

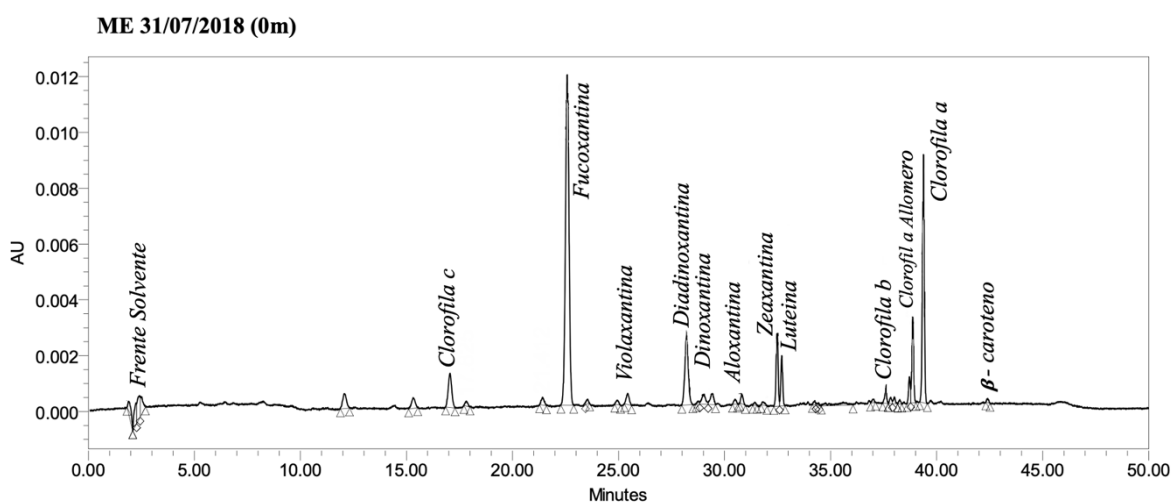


Figura IV.1. Ejemplo de cromatograma obtenidos con detalle de pigmentos determinados. Muestra para el lago ME a 0m de la fecha 31/07/2018

En los lagos estudiados, se observó que el pigmento accesorio fucoxantina fue dominante en la columna de agua, representando en promedio entre el 49% y 79%. Le siguió en importancia el pigmento cloro *c* con contribuciones que variaron entre el 5% y 18% y similares aportes de diadinoxantina., cloro *b*, luteína y zeaxantina (Figura IV.2). Además, se observó también la presencia de violaxantina en menor proporción, entre 0,8% y 3%. Se encontraron concentraciones trazas de peridinina y aloxantina que fueron inferiores al 0,5%, y no se muestran en la figura.

En cuanto a la comparación entre los lagos estudiados, no presentaron una diferencia clara en las concentraciones y en la contribución de los pigmentos accesorios como promedios de la columna de agua (Figura IV.2).

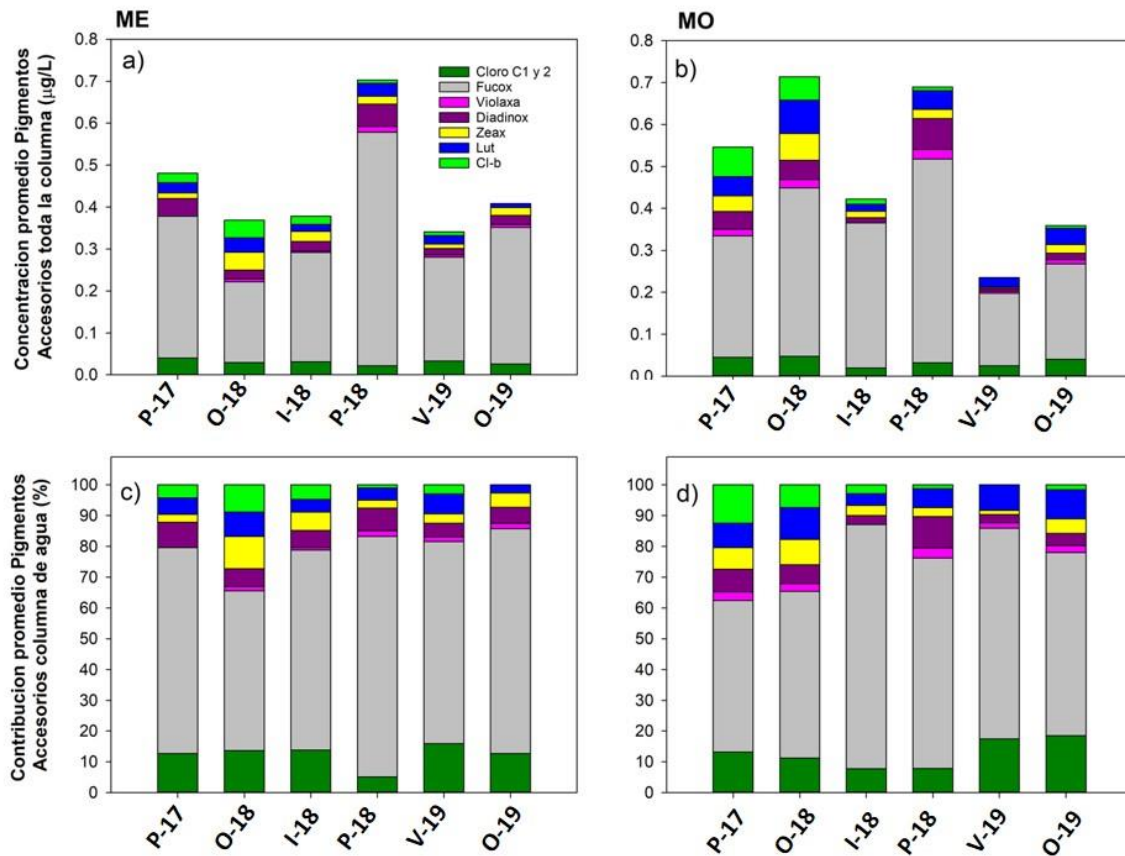


Figura IV.2. Detalle de la concentración y contribución porcentual de los principales pigmentos fitoplanctónicos como promedio para toda la columna de agua y las distintas fechas del período estudiado para los lagos ME (a y c) y MO (b y d). Ver Anexo IV al final del Capítulo IV con las concentraciones y desvíos estándar.

Analizando la contribución de cada pigmento como promedio de la columna de agua, en el lago ME no se observaron diferencias significativas entre fechas para los pigmentos violaxantina y luteína (ANOVA, $p > 0,01$). Por otro lado, y para este mismo lago, la clorofila c presentó diferencias significativas principalmente entre la primavera 2018 y todas las demás fechas estudiadas (ANOVA, $p < 0,001$). En particular, la diadinoxantina mostró claras diferencias entre las primaveras 2017 y 2018 con las restantes fechas (ANOVA, $p < 0,001$). Mientras que la zeaxantina y la clorofila b, presentaron diferencias significativas principalmente entre el otoño 2018 y el resto de las fechas estudiadas (ANOVA, $p < 0,001$). La

fucoxantina, solo presentó diferencias significativas entre el otoño 2018 y el resto de las fechas. Por su parte, el lago MO presentó un patrón similar no existiendo diferencias significativas entre fechas para los pigmentos violaxantina y luteína (ANOVA, $p > 0,01$). Sin embargo, la clorofila *c* presentó diferencias entre el verano 2019 y el otoño 2019 y todas las demás fechas (ANOVA, $p < 0,001$). La diadinoxantina mostró principalmente diferencias entre la primavera 2018 con todas las demás fechas y entre la primavera 2017 y el otoño de 2018 con las restantes fechas (ANOVA, $p < 0,001$). Por último, la clorofila *b* mostró diferencias entre la primavera 2017 y el resto de las fechas (ANOVA, $p < 0,001$).

La concentración y contribución de los pigmentos accesorios en la columna de agua se correspondió con los datos de abundancia y biovolumen descritos para la comunidad fotótrofa (**Capítulo III**). Los pigmentos fucoxantina + clorofila *c*, representaron en conjunto cerca del 80% de la totalidad de los pigmentos accesorios en la columna de agua. Estos pigmentos son compartidos por los grupos Bacillariophyceae, Dinophyceae, Cryptophyceae, Haptophyceae y Chrysophyceae. Entre estos grupos, se observó que Bacillariophyceae y Dinophyceae fueron responsables en promedio del 69 y 11% del biovolumen total del fitoplancton, respectivamente (ver **Capítulo III**).

Por otro lado, los pigmentos cloro *b* + luteína contribuyeron con el 9 y 13% de la totalidad de los pigmentos accesorios en la columna de agua para los lagos ME y MO respectivamente, en coincidencia con el aporte de las Chlorophyta (endosimbiontes de los ciliados mixotróficos), como segundo grupo más importante al biovolumen con un promedio del 14% del total.

Para realizar un análisis más detallado de la concentración de pigmentos accesorios y su contribución porcentual, se evaluó su variabilidad en la columna de agua, para las distintas fechas estudiadas (Figura IV.3).

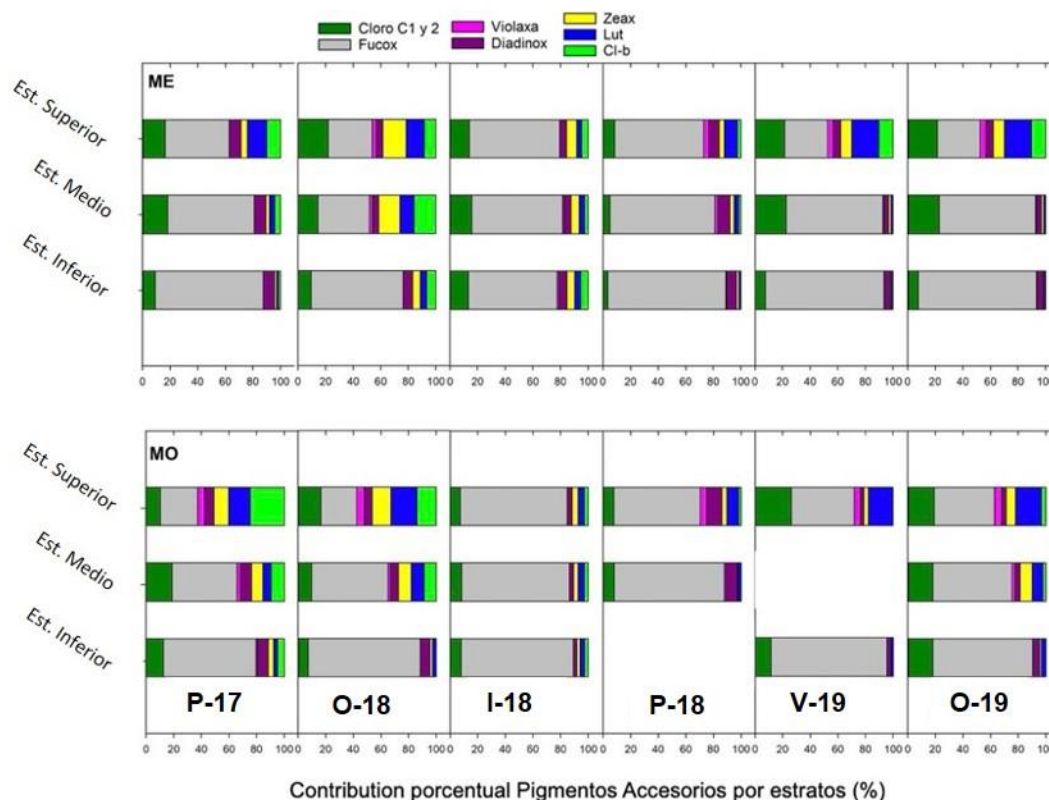


Figura IV.3. Contribución porcentual de los principales pigmentos fitoplanctónicos como promedio de los distintos estratos evaluados (epilimnion, metalimnion e hipolimnion) para las distintas fechas y lagos estudiados. Ver Anexo IV al final del Capítulo con las concentraciones y desvíos estándar.

En general, la fucoxantina fue el pigmento dominante en los tres estratos de la columna de agua (superior, medio e inferior). Sin embargo, se observó que los estratos superiores (entre los 0 y 40 m) presentaron, en general, una mayor diversidad de pigmentos, con importantes contribuciones de clorofila b, zeaxantina y luteína. Mientras que el estrato inferior estuvo ampliamente dominado por la fucoxantina y la clorofila c.

Es importante destacar que cuando la columna de agua se encontraba mezclada durante el muestreo invernal, se observó una homogeneidad vertical en los pigmentos tanto para el lago

ME como el MO. Estos resultados coinciden con la variación vertical y estacional observada para el biovolumen fitoplanctónico y los índices de diversidad descritos en el **Capítulo III**.

En contraposición a las congruencias generales observadas entre los pigmentos accesorios y los datos de abundancia y biovolumen fitoplanctónico, el estudio de las correlaciones lineales entre pigmentos y biovolumen de grupos específicos mostraron en varias ocasiones relaciones débiles y con grandes dispersiones (Figura IV.4).

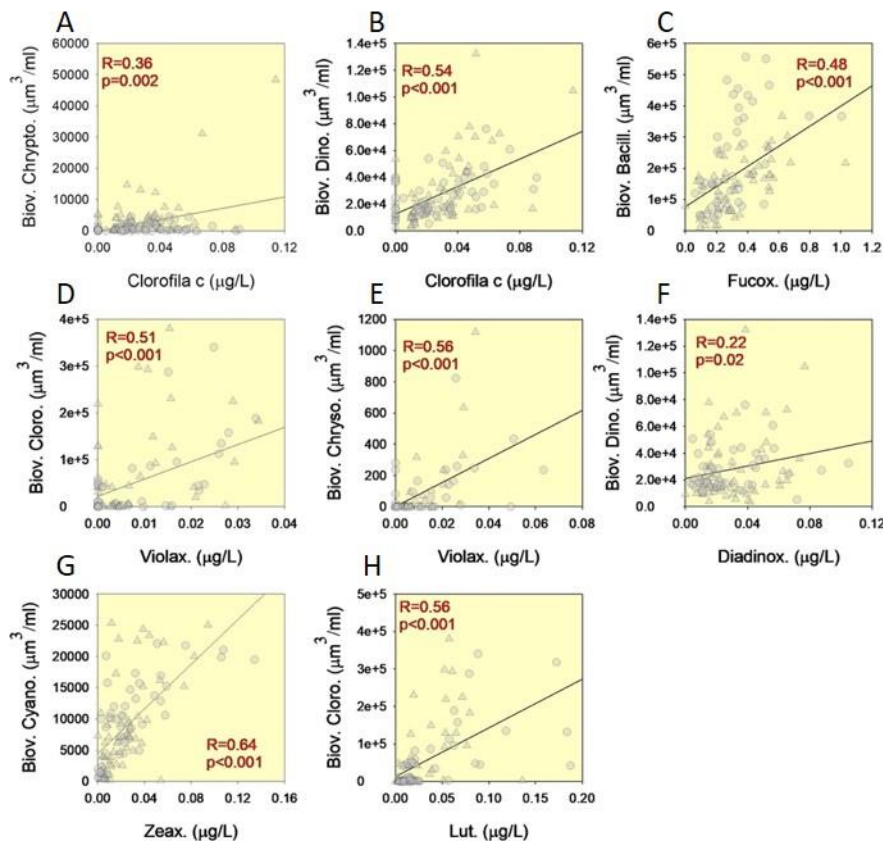


Figura IV.4. Correlaciones significativas ($p < 0.001$) entre los pigmentos accesorios y los distintos biovolúmenes fitoplanctónicos taxonómicos obtenidos. Referencias: Biov. (biovolumen), Crypto (Cryptophyceae), Dino (Dinophyceae), Bacill (Bacillariophyceae), Cloro (Chlorophyta), Chryso (Chrysophyceae), Cyano (Cyanobacteria), Fucox (fucoxantina), Violax. (violaxantina), Diadinox. (diadinoxantina), Zeax. (zeaxantina), Lut. (luteína).

Si bien existen pocos pigmentos marcadores inequívocos de ciertos grupos algales y estos no necesariamente se mantienen en proporciones intracelulares constantes (de hecho, suelen presentar una importante variación en respuesta a cambios ambientales), la relación lineal entre un grupo bien representado y un pigmento presente (aunque no exclusivamente en este grupo)

puede constituir una muy buena herramienta quimiotaxonómica para estimar la estructura de la comunidad fitoplanctónica. Por ejemplo, dada la composición pigmentaria de las Bacillariophyceae, es esperable una buena relación entre el biovolumen de este grupo y la concentración del pigmento fucoxantina. Considerando los datos obtenidos para los dos lagos estudiados en conjunto, se observó una correlación significativa entre este grupo dominante y el pigmento fucoxantina ($r=0,48$; $p < 0,001$, Figura IV.4c). También se observó una relación significativa entre la clorofila c y el biovolumen de las Dinophyceae ($r=0,54$; $p < 0,001$, Figura IV.4b), pero no así entre este pigmento y las Bacillariophyceae ($p>0,005$), y una relación débil, aunque significativa con las Cryptophyceae ($r=0,36$; $p = 0,002$; Figura IV.4a). El pigmento violaxantina mostró una buena relación significativa con el biovolumen de las Chrysophyceae ($r=0,56$; $p < 0,001$; Figura IV.4e) y con las Chlorophyta, pero mostrando para este último grupo una importante dispersión ($r=0,51$; $p < 0,001$; Figura IV.4d). Por otro lado, la clorofila b mostró una relación muy débil con el biovolumen de Chlorophyta ($p>0,005$), pero si se observó una buena relación entre la luteína y Chlorophyta; aunque nuevamente con mucha dispersión ($r=0,64$; $p < 0,001$; Figura IV.4h). Por último, la zeaxantina mostró una fuerte y significativa relación con el biovolumen de las Pcy ($r=0,56$; $p < 0,001$; Figura IV.4g).

Las razones particulares por las cuales pensamos que se observaron relaciones con gran dispersión, o falta de relaciones entre pigmentos claves como la clorofila c y las Bacillariophyceae, o la clorofila b y Chlorophyta, pueden estar relacionadas con un problema metodológico más que por respuestas a procesos naturales. Es decir, si bien es esperable cierta dispersión de los datos debido a cambios en la composición pigmentaria como respuesta a la heterogeneidad ambiental (diferencias en la irradiancia fotosintéticamente activa, composición espectral, radiaciones UV, concentración de nutrientes, temperatura del agua, entre otros), el análisis detallado de los datos pigmentarios sugiere diferencias en la cantidad de material extraído entre muestras, esto podría estar relacionado con la metodología de extracción

utilizada. Por esta razón, se deben tener reservas al interpretar los resultados cualitativos de los pigmentos obtenidos y, en consecuencia, no se incorporaron a los modelos predictivos para describir la estructura taxonómica de la comunidad fitoplanctónica, ni serán incluidos en la sección de Discusión del presente Capítulo.

IV.3.2 Coeficientes de absorción algales *in vivo* a longitudes de onda de referencia

Los coeficientes de absorción fitoplanctónicos a las longitudes de onda de referencia (435 y 675 nm) fueron analizados, en primer lugar, como promedios de la columna de agua para describir su variación temporal y entre lagos. El coeficiente de absorción fitoplanctónico a los 440 nm, $a_f(440)$, varió en un factor de 6 veces entre 0,0086 y 0,0510 m^{-1} y no mostró diferencias entre lagos (ANOVA, $p > 0,05$). Por su parte, el $a_f(675)$ mostró una mayor variación (en un factor de 22 veces) entre 0,0015 y 0,0330 m^{-1} , nuevamente sin diferencias entre lagos (ANOVA, $p > 0,05$).

Una parte importante de la variación descrita se relacionó con las distintas fechas muestreadas. El $a_f(435)$ mostró, para los dos lagos, mayores valores promedios durante las fechas de mezcla (invierno y primavera 2018) (Figura IV.5). Esta diferencia fue significativa en ambos lagos (ANOVA, $p < 0,001$), mientras que las restantes fechas no presentaron diferencias significativas entre ellas (ANOVA, $p > 0,01$).

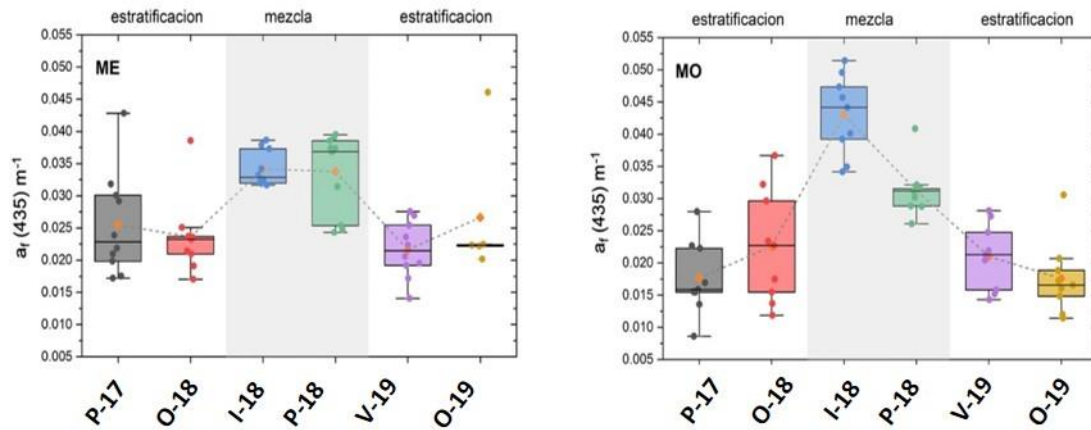


Figura IV.5. Boxplots para $a_f(435)$ mostrando la variabilidad entre fechas y lagos estudiados. Se presentan los valores promedios (unidos por línea punteada), las medianas y los percentiles 25 y 75.

En cuanto al $a_f(675)$, se observaron patrones diferentes entre los lagos (Figura IV.6). En el lago ME, estos registraron valores promedio mayores en la fecha de mezcla durante la primavera 2018 (ANOVA, $p < 0,002$). Por otro lado, en el lago MO, se observaron valores promedios más altos para las dos fechas de mezcla (invierno y primavera 2018) (ANOVA, $p < 0,001$).

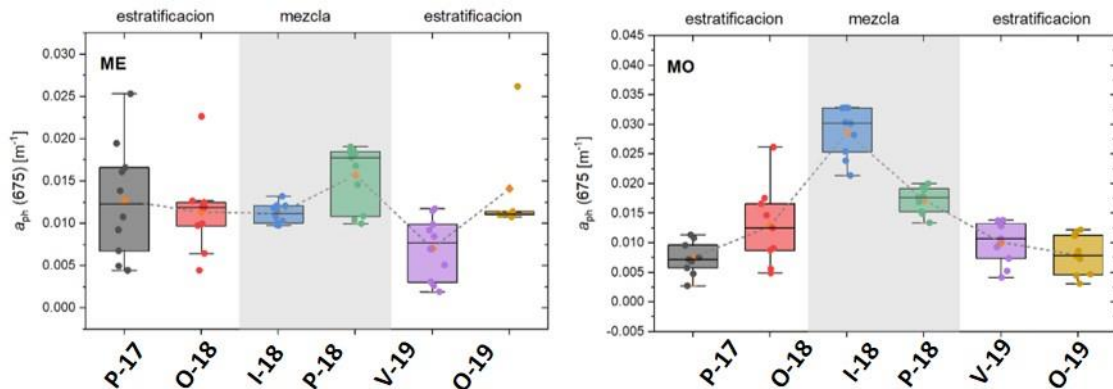


Figura IV.6. Boxplots para $a_f(675)$ mostrando la variabilidad entre fechas y lagos estudiados. Se presentan los valores promedios (unidos por línea punteada), las medianas y los percentiles 25 y 75.

Por otro lado, se analizó las relaciones entre los coeficientes de absorción a las longitudes de onda de referencia y la concentración de clorofila a obtenida por fluorescencia. Considerando

todos los datos en conjunto se observó una buena relación para los dos lagos estudiados. Entre $a_f(440)$ y la clorofila a se obtuvo un $R^2=0,53$ y $0,59$ para los lagos ME y MO respectivamente, mientras que para el $a_f(675)$ el coeficiente de regresión fue de $0,67$ y $0,62$ para los mismos lagos. Sin embargo, esta relación varió mucho entre fechas, indicando una variación temporal en la absorción por unidad de clorofila a (figura IV.7).

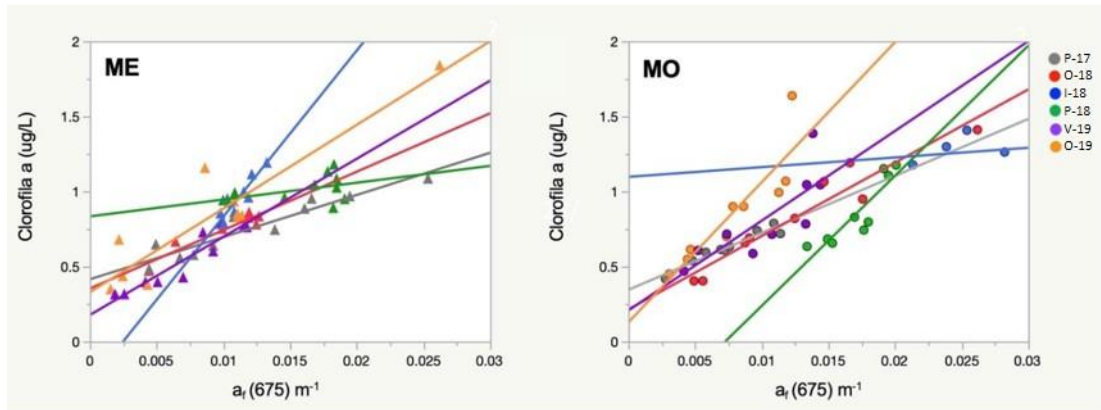


Figura IV.7. Regresiones lineales entre los espectros de absorción fitoplanctónicos *in vivo* a los 675 nm ($a_f(675)$) y la concentración de clorofila a para los dos lagos, discriminando por las distintas fechas estudiadas.

Por ejemplo, para el $a_f(675)$ se observó en los dos lagos una importante diferencia en las pendientes de regresión variando entre $6,46$ y $110 \mu\text{g L}^{-1} \text{m}$ (Figura IV.7). Además, los coeficientes de regresión también presentaron una importante diferencia entre fechas, mostrando para el lago ME una débil relación para la fecha de primavera 2018 ($R^2=0,19$) y una fuerte relación para la fecha primavera 2017 ($R^2=0,89$). Por otro lado, en el lago MO se encontró una relación débil, no significativa durante una de las fechas de mezcla (primavera 2018, $R^2=0,05$) y un máximo valor para la primavera tardía del 2017.

IV.3.3 Espectros de absorción fitoplanctónicos

Las longitudes de onda entre los $\sim 435\text{-}440 \text{ nm}$ y los $\sim 675 \text{ nm}$, conocidas como longitudes de onda de referencia, son las más estudiadas de los espectros de absorción del fitoplancton *in*

vivo debido a que corresponden al primer y al segundo pico de absorción de la clorofila a (pigmento siempre presente y en general dominante de todos los grupos algales). Sin embargo, el espectro de absorción del fitoplancton es el resultado de la suma y solapamiento de todos los pigmentos presentes en la comunidad. Así mismo, su amplitud y forma espectral se ven influenciados por el accionar conjunto de la composición pigmentaria y el efecto de empaquetamiento. Este último está determinado por la concentración intracelular de pigmentos y el tamaño celular. Por lo tanto, la totalidad del espectro entre aproximadamente los 400 y 700 nm contiene mucha información valiosa sobre la composición taxonómica y ecofisiológica de la comunidad fitoplanctónica.

En la Figura IV.8 a y b se muestran los espectros de absorción fitoplanctónica medidos para los dos lagos estudiados, en distintas profundidades y fechas. En todos los casos, se observa la firma espectral clásica del fitoplancton con dos picos principales en 435 y 675 nm. También se pueden apreciar otros picos y valles de menor magnitud ubicados principalmente entre los intervalos 450-500 nm y 550-650 nm del espectro. En general, ambos lagos presentaron un grado de variación similar en los espectros de absorción promedio cuando se agruparon todas las muestras de la columna de agua y fechas estudiadas (Figura IV.8 c y d). Sin embargo, el lago ME mostró valores mayores de desviación estándar más altos en el rango de 500 - 650 nm en comparación con el lago MO. Por su parte, el lago MO mostró mayores valores de desviación estándar entre los 435-500 nm y entre los 650-700 nm (Figura IV.8 c y d).

La utilización de derivadas de cuarto orden (δ^4) para las diferentes longitudes de onda, es una forma de amplificar las diferencias en los espectros de absorción con el fin de identificar y cuantificar los distintos picos espectrales (Bidigare et al., 1989). Estos picos en ocasiones pueden ser atribuidos a pigmentos específicos o a grupos de pigmentos dependiendo la composición pigmentaria de la comunidad. Los dos lagos estudiados mostraron espectros promedios de δ^4 muy similares entre ellos, presentando claramente 6 picos bien identificables

(Figura IV.8 e y f). En cuanto al número de picos identificados mediante la derivada cuarta, no se observaron diferencias entre estratos (superior, medio e inferior). Los 6 picos espectrales identificados se ubicaron a los 495, 535, 540, 570, 625, 675 nm (Figura IV.8 e y f). Posteriormente, los coeficientes de absorción a estas longitudes de onda fueron utilizados para desarrollar los modelos predictivos de la biomasa y composición taxonómica del fitoplancton.

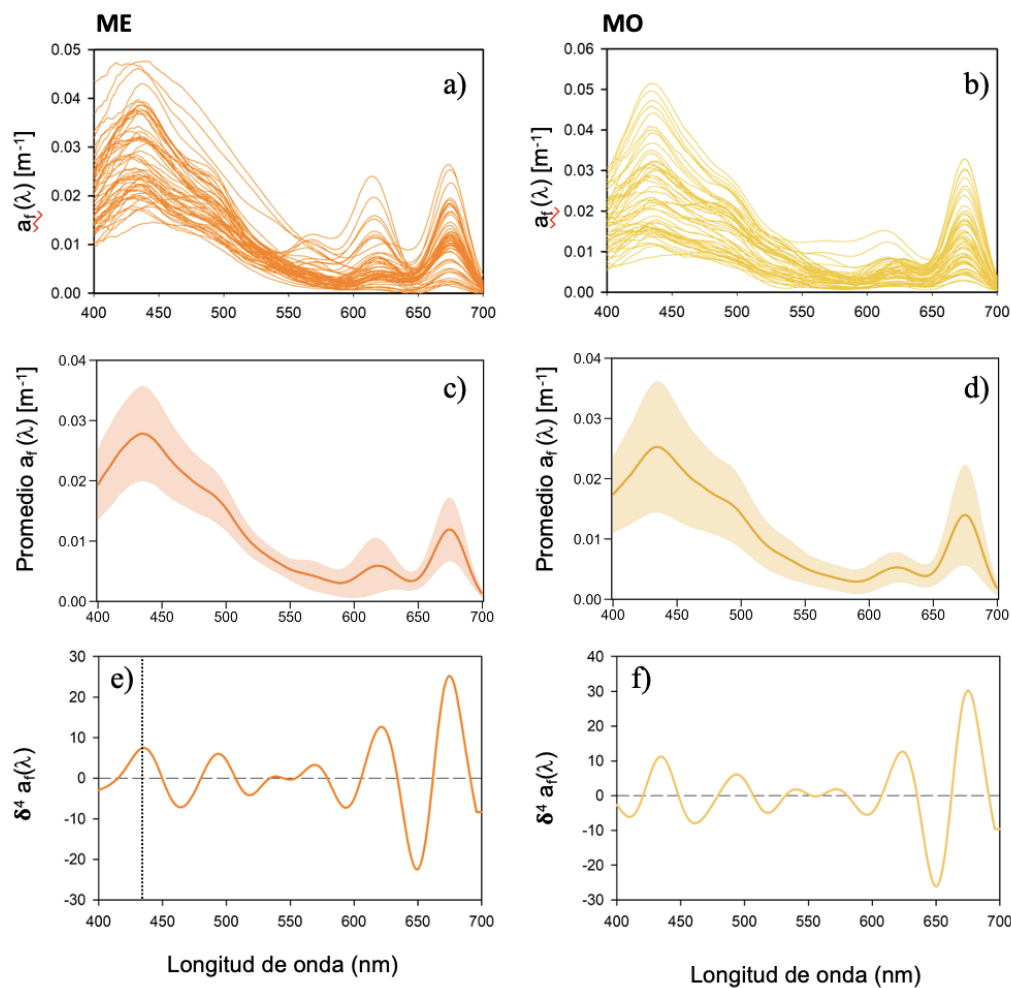


Figura IV.8. Espectros de absorción del fitoplancton *in vivo* obtenidos para diferentes profundidades y fechas para el lago ME (a) y MO (b); Espectros promedio de la columna de agua y de las distintas fechas estudiadas para ME (c) y MO (d); Derivadas cuartas (δ^4) para los espectros de absorción promedio en la columna de agua del lago ME (e) y MO (f).

IV.3.4 Estimación de la biomasa fitoplanctónica

La utilización de la concentración de clorofila a para estimar la biomasa fitoplanctónica es una de las formas más ampliamente aceptadas. Sin embargo, en nuestro estudio no se encontró una muy buena relación entre la concentración de clorofila a y la biomasa del fitoplancton. Considerando todos los datos en conjunto, la Cla explicó solo un 10% de la variación observada en la biomasa total fitoplanctónica (Figura IV.9 a). Esta relación no mostró diferencias significativas entre los lagos, R^2 de 0,08 para el lago ME y 0,11 para el lago MO (datos no mostrados). Sin embargo, al considerar la variación temporal en la relación clorofila a -biomasa se observó una mejora en las estimaciones. Con la excepción de la primavera 2018, todas las restantes fechas mostraron un $R^2 > 0,11$, llegando a 0,50 y 0,54 para el verano 2019 y el invierno 2018 respectivamente (datos no mostrados).

Por otro lado, una mejor relación general se obtuvo utilizando el coeficiente de absorción a los 675 nm como estimador de la biomasa total fitoplanctónica. Considerando todos los datos en conjunto el $a_f(675)$ explicó significativamente el 36 % de la variación observada en la biomasa (Figura IV.9 b). Valores similares se obtienen si se analiza la relación para cada lago por separado. Evaluar la relación entre $a_f(675)$ y la biomasa total por fecha mejoró la estimación para varias ocasiones. Con la excepción de la primavera 2018, todas las restantes fechas mostraron un coeficiente de regresión lineal superior a 0,30. En particular, el invierno 2018 y verano 2019 presentaron los mayores R^2 , alcanzando los valores de 0,80 y 0,50, respectivamente (datos no mostrados).

Las buenas relaciones observadas entre $a_f(675)$ y la biomasa total fitoplanctónica demuestran el potencial de los espectros de absorción *in vivo* del fitoplancton para proporcionar información relevante de la comunidad fitoplanctónica. Es importante tener en cuenta que en estas regresiones se están usando solo los valores a una longitud de onda.

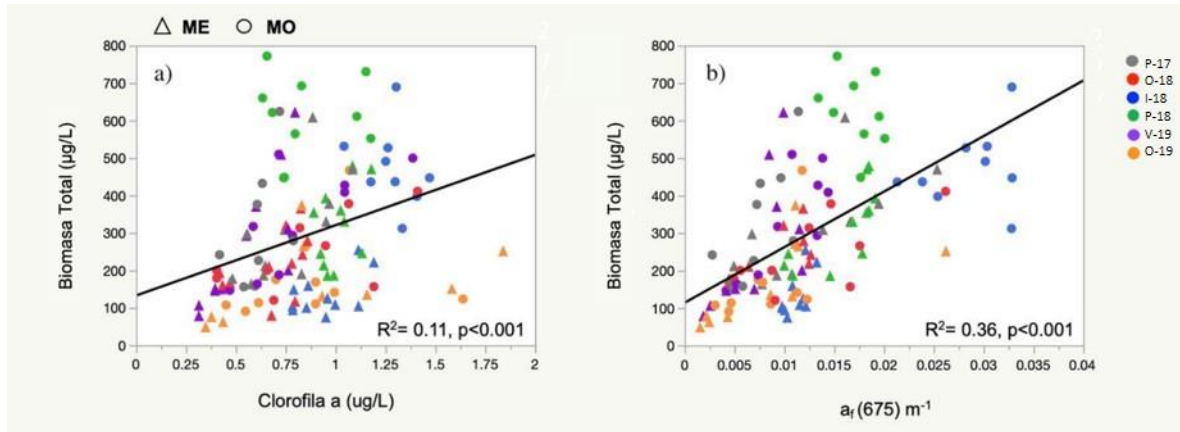


Figura IV.9. Regresiones lineales entre a) la clorofila a y la biomasa total fitoplanctónica y entre b) el coeficiente de absorción in vivo del fitoplancton a los 675 nm y la biomasa total fitoplanctónica, considerando todos los datos en conjunto.

IV.3.5 Complejización de los modelos predictivos de biomasa fitoplanctónica y composición taxonómica

Modelos de RLM y aprendizaje automático

Siguiendo los objetivos planteados en el presente Capítulo de esta Tesis Doctoral, se evaluó el rendimiento de distintos modelos de complejización creciente para predecir la biomasa fitoplanctónica total y de los principales grupos taxonómicos de esta comunidad. Para esto se utilizaron como variables explicativas los coeficientes de absorción fitoplanctónicos a las 6 longitudes de onda identificadas por medio de las δ^4 de los espectros. Estos 6 espectros de absorción nos proporcionan información sobre los cambios en la amplitud en el espectro visible. Además, se realizaron todas las combinaciones posibles entre estos coeficientes de absorción en forma de cocientes [ejem. $a_f(495)/a_f(435)$], sin considerar las recíprocas, para capturar los cambios en la forma espectral independientemente de los cambios de amplitud. También se consideraron los coeficientes de absorción normalizados por el promedio espectral para las 6 longitudes de onda identificadas por las δ^4 . Estas variables son otra forma de evaluar los cambios en la forma espectral disminuyendo la importancia de la amplitud espectral. Otras

variables consideradas incluyeron el promedio espectral entre los 400 y 700 nm para cada espectro y la pendiente espectral fitoplanctónica.

Por último y como *inputs* auxiliares se utilizaron las variables lago, fecha, profundidad y estructura térmica en los modelos de aprendizaje automático (ver sección IV.2.5). En total, se trabajó con 29 variables predictivas.

Los primeros modelos evaluados fueron los de RLM. En general, se obtuvo una buena predicción de la biomasa total y de la biomasa de los principales grupos taxonómicos utilizando regresiones lineales múltiples, excepto para la biomasa de los dinoflagelados y las criptofíceas. Estos dos grupos presentaron para el conjunto de validación valores de coeficiente de regresión muy bajos, o modelos no significativos (Tabla IV.1).

Tabla IV.1. Resultados de los diferentes modelos de predicción evaluados. Se presentan los coeficientes de regresión para el grupo de calibración (R^2_{CAL}) y validación (R^2_{VAL}), así como los errores y pendiente de regresión obtenidos para datos de validación (RMSE, MAE, pendiente).

Variables	Tipo de Modelo	R^2_{CAL}	Datos de Validación			
			R^2_{VAL}	RMSE	MAE	Pendiente
Biomasa	RLM	0,48	0,64	90,97	0,282	0,98
	RF	0,79	0,71	79,586	0,208	1,11
Total	BT	0,75	0,66	91,339	0,267	0,89
	XGB	0,98	0,69	81,027	0,229	0,95
Biomasa	RLM	0,52	0,60	133,21	1,50	0,96
	RF	0,77	0,82	76,64	0,99	1,20
Bacillariophyceae	BT	0,96	0,79	80,21	0,96	1,18
	XGB	0,99	0,84	71,42	0,87	1,22
Biomasa	RLM	0,54	0,52	70,03	4,01	1,23
	RF	0,72	0,62	61,74	2,63	1,05
Chlorophyceae	BT	0,70	0,48	73,10	3,99	1,08
	XGB	0,84	0,47	73,93	4,20	0,92
Biomasa	RLM	0,31	0,20	15,08	0,67	0,51
	RF	0,38	0,61	11,72	0,70	0,99
Dinophyceae	BT	0,78	0,40	11,57	0,61	1,02
	XGB	0,55	0,35	13,13	0,62	0,99
Biomasa	RLM	0,49	0,44	7,87	14,59	0,14
	RF	0,78	0,72	0,63	1,35	1,20
Haptophyceae	BT	0,94	0,74	0,59	1,07	1,14
	XGB	0,94	0,73	0,62	1,17	1,26
Biomasa	RLM	0,14	n.s.			
	RF	0,75	0,55	1,89	2,55	1,12
Cryptophyceae	BT	0,81	0,66	1,69	2,59	1,16
	XGB	0,99	0,60	1,74	2,67	1,15
Biomasa	RLM	0,52	0,45	5,21	0,96	0,70
	RF	0,85	0,79	3,48	0,57	0,96

Cyanobacteria	BT	0,77	0,63	4,54	1,06	1,03
	XGB	0,99	0,72	4,16	0,92	0,91

En comparación con los modelos de RLM, los modelos de aprendizaje automático superaron su desempeño tanto para la biomasa fitoplanctónica total, como para los 6 grupos taxonómicos evaluados en términos de predicción. En general, estos modelos, o alguno de ellos, presentaron menores valores en la raíz del error cuadrático medio (RMSE) y un mayor R^2 para el conjunto de validación (Tabla IV.1) que los modelos de RLM.

Los modelos de aprendizaje automático mostraron un buen a muy buen nivel de estimación, con valores de R^2_{VAL} que variaron entre 0,61 y 0,84 y errores medios absolutos (MAE) entre 0,21 y 2,6 $\mu\text{g L}^{-1}$. La mejor estimación, en términos del MAE, se obtuvo para la biomasa total fitoplanctónica en donde el modelo de RF explicó el 71% de la variación observada para el conjunto de validación y un MAE del 0,21 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Tabla IV.1y Figura IV.10).

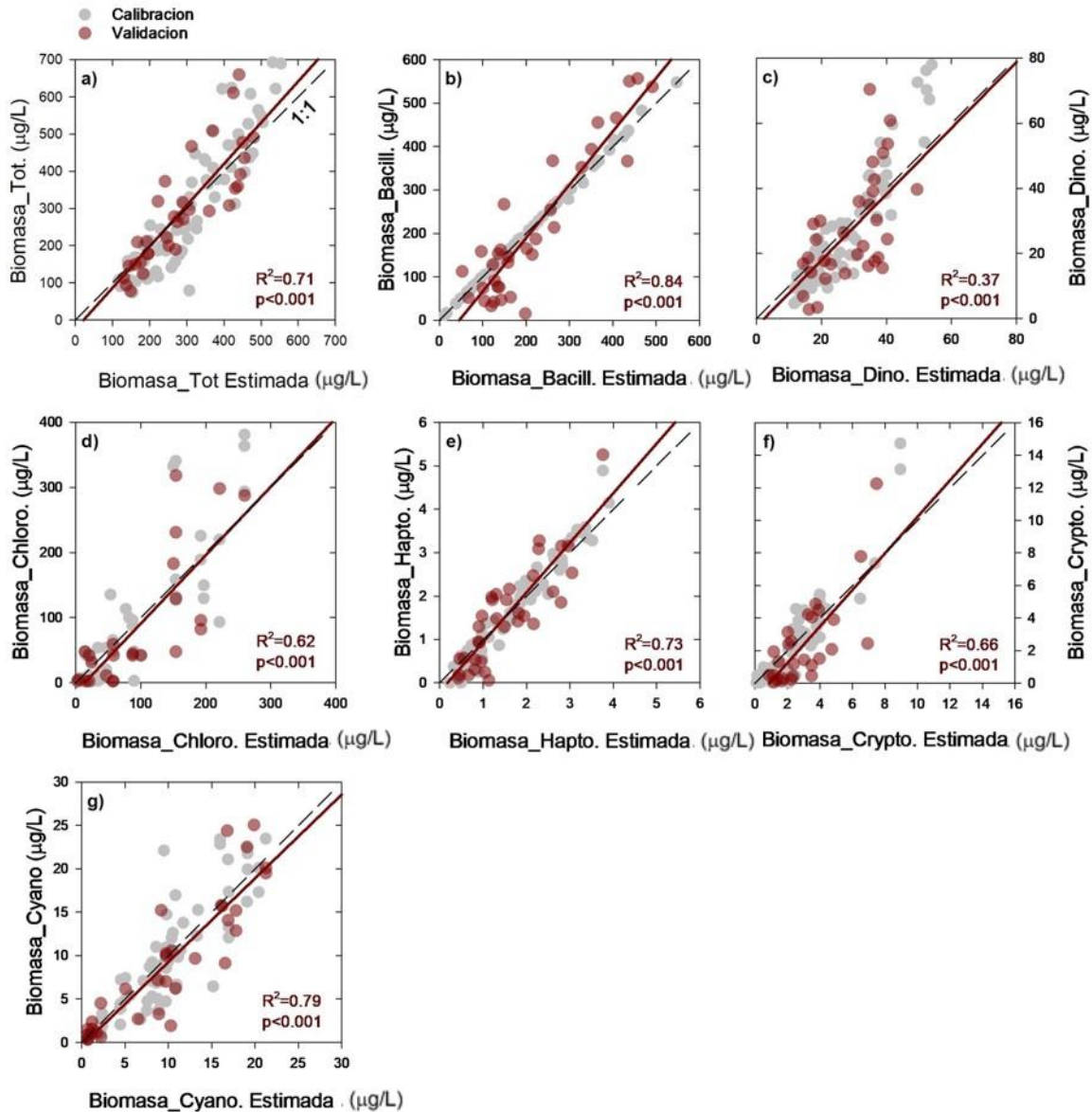


Figura IV.10. Gráficos de regresión entre de la biomasa total observada ($\mu\text{g L}^{-1}$) y la biomasa de los distintos grupos taxonómicos con los resultados de los distintos modelos de estimación. Se muestran los resultados para el conjunto de validación y como referencia los datos de calibración. Referencias: Crypto (Cryptophyceae), Dino (Dinophyceae), Bacill (Bacillariophyceae), Hapto (Haptophyceae), Chloro (Chlorophyta), Chryso (Chrysophyceae), Cyano (Cyanobacteria).

El resultado obtenido con los modelos de aprendizaje automático superó ampliamente las estimaciones de la biomasa total obtenida con la concentración de clorofila a y la absorción del fitoplancton a una única longitud de onda, a_f (675), (Figura IV.7). Por otro lado, la peor estimación con los modelos de aprendizaje automático fue para las Chlorophyta. Para este grupo, el modelo de RF explicó el 62% de la variación observada en la biomasa de este grupo,

pero con un MAE del $2,63 \mu\text{g L}^{-1}$. No se encontró un patrón claro en el desempeño de los modelos de aprendizaje en relación con la importancia del aporte de un grupo específico a la biomasa total, observándose un buen desempeño tanto en grupos dominantes como las Bacillariophyceae, así como en grupos con una mucho menor contribución como las Haptophyceae (Tabla IV.1, Figura IV.10 b y e).

Al analizar los resultados obtenidos para la biomasa total fitoplanctónica por lago y fechas estudiadas, se observó en general una muy buena predicción de esta importante variable. No se encontraron diferencias significativas en la biomasa total fitoplanctónica entre los valores observados y los estimados considerando todos los datos en conjunto para cada lago (Figura IV.11).

Si consideramos las distintas fechas muestreadas, se puede observar que el modelo predictivo estimó correctamente los valores de biomasa total fitoplanctónica como promedio de la columna de agua en casi todas las ocasiones y en los dos lagos, sin encontrar diferencias significativas entre los valores observados y estimados ($p > 0,05$; Tabla IV.2). Sin embargo, hubo una excepción en la primavera 2018 para el lago MO, en donde el modelo predictivo estimó un valor de biomasa total un 20% menor a la observada para esta fecha ($p = 0,004$; Tabla IV.2).

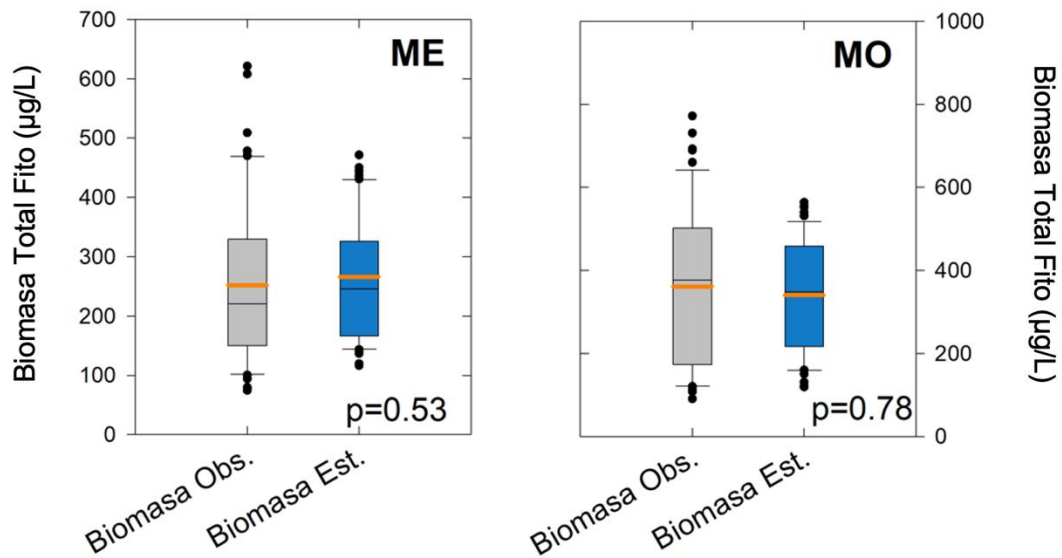


Figura IV.11. Boxplots mostrando la distribución de la biomasa total fitoplanctónica observada y la estimada con el mejor modelo de aprendizaje automático. Se presenta en línea naranja la media de la distribución y el valor p de la comparación entre medias (ANOVA o KW ANOVA).

Tabla IV.2. Resultados de la comparación de medias entre valores observados y estimados de biomasa total fotótrofa para los dos lagos y fechas estudiadas. En rojo: diferencia significativa entre valor observado y estimado ($p < 0.005$)

Lago	Fecha	Biomasa Total Observada		Biomasa Total Estimada		p valor
		Media	DS	Media	DS	
ME	Primavera 2017	315,46	139,84	327,72	104,09	0,689
	Otoño 2018	221,74	92,25	255,92	65,56	0,385
	Invierno 2018	134,29	59,21	160,76	40,00	0,082
	Primavera 2018	314,27	106,78	342,57	95,19	0,519
	Verano 2019	263,94	183,87	237,32	100,98	0,726
	Otoño 2019	258,13	86,17	264,35	34,22	0,326
MO	Primavera 2017	326,73	155,57	288,93	80,48	0,527
	Otoño 2018	247,24	101,23	280,35	82,41	0,458
	Invierno 2018	474,19	105,16	475,79	35,49	0,966
	Primavera 2018	627,94	99,23	501,98	48,71	0,004
	Verano 2019	328,30	141,18	300,78	102,15	0,642
	Otoño 2019	166,49	116,25	195,71	72,51	0,102

IV.3.6 Contribución de las distintas variables al modelo predictivo

Si bien la predicción de la biomasa con el menor error posible es el principal objetivo por cumplir, el estudio de las variables explicativas y su grado de aporte al modelo en cuestión es de significativa importancia para comprender el funcionamiento de la ecuación de estimación y de su complejidad. Así mismo, el análisis detallado de las variables predictivas permite saber qué partes del espectro son sensibles para la estimación de la biomasa de determinados grupos algales y qué partes pueden no serlo. Procesos como la aclimatación, el solapamiento de pigmentos y el efecto de empaquetamiento pueden ir en sentidos contrarios dificultando la utilización de los espectros de absorción para la estimación de la concentración de pigmentos y de la cuantificación de grupos taxonómicos. Además, la inclusión de otras variables accesorias como profundidad, estructura térmica y estacionalidad puede dar idea de qué patrones espacio-temporales son importantes para dar forma a la comunidad fitoplanctónica. En particular, los mejores modelos predictivos obtenidos para la biomasa total y la de los distintos grupos taxonómicos evaluados mostraron en general una importante variabilidad en las principales variables que entraron en los algoritmos en cuestión. Con el propósito de resumir los resultados solo se tomó en cuenta, para cada modelo, las variables que en conjunto llegaban a explicar el 90% de la variabilidad, denominando a estas como “las principales variables explicativas” (ver Figura IV.12).

De las 29 principales variables explicativas, 8 fueron incluidas solamente en un grupo en particular, mientras que las restantes aparecieron entre 2 hasta 7 veces (Figura IV.12). Por ejemplo, los cocientes $a_f(540)/(494)$ y $a_f(540)/(675)$ fueron solo importantes para la predicción de la biomasa total fitoplanctónica, mientras que el coeficiente $a_f(435)$ y el cociente $a_f(625)/(675)$ solo fueron incluidas en el modelo de predicción de la biomasa de los Dinoflagelados. De forma similar, el coeficientes normalizado $a_f(625)^n$ y el coeficiente promedio espectral a mean solo fueron importantes para la estimación de la biomasa de las

Cyanobacteria, mientras que el coeficiente a_f (540) y el cociente a_f (570)/(494) solo fueron importantes para Haptophyceae y Chlorophyta, respectivamente (Figura IV.12).

De las restantes principales variables predictivas 11 fueron importantes para dos grupos conjuntamente, mientras que solo 4 fueron compartidas conjuntamente entre 3 grupos taxonómicos (incluida la biomasa total entre estos). Entre los coeficientes de absorción y sus variables derivadas (cocientes, espectros normalizados y espectros promedios), los más frecuentes en los modelos predictivos fueron los cocientes a_f (494)/(675) y a_f (625)/(540) que aparecieron en 4 ocasiones cada uno.

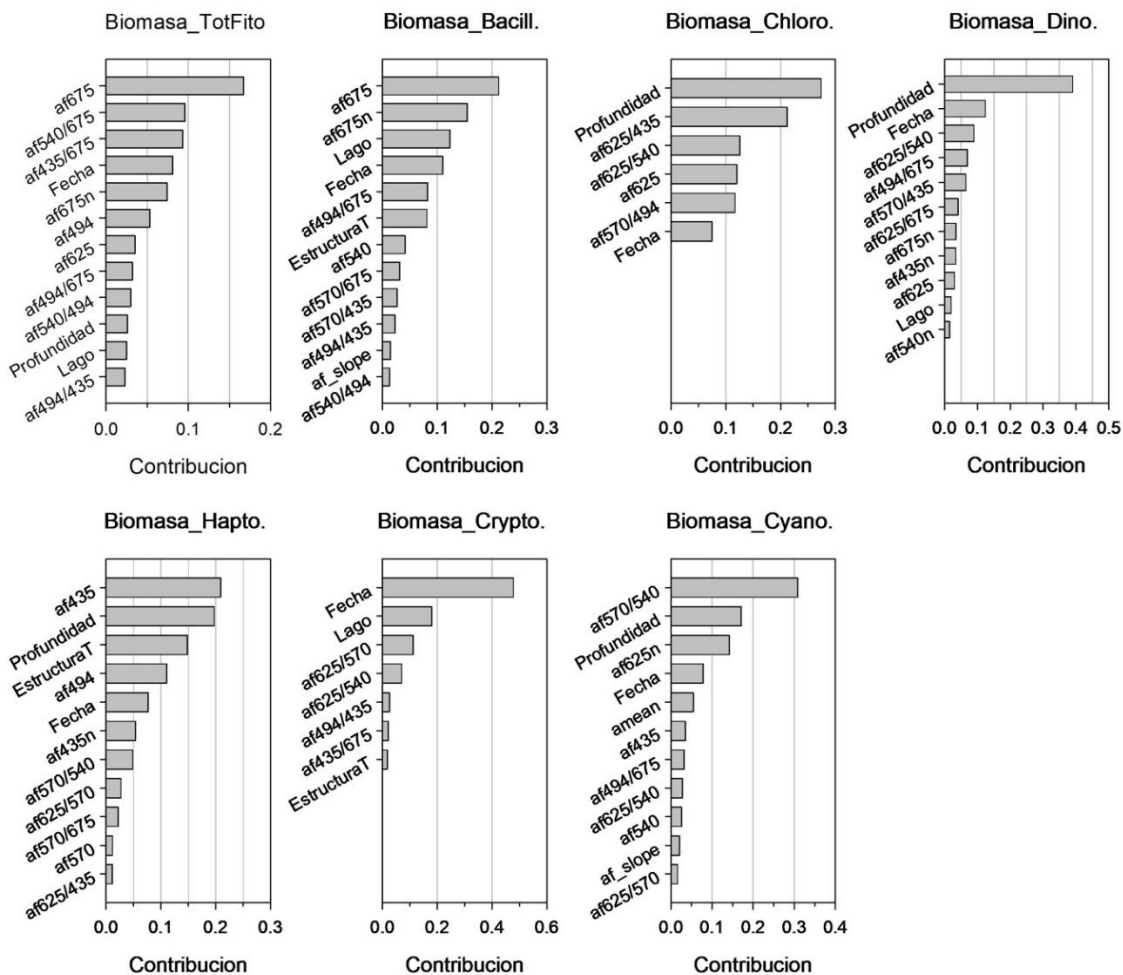


Figura IV.12. Contribución de las principales variables a los mejores modelos predictivos de biomasa para cada grupo evaluado. Se muestran las variables que en conjunto contribuyen el 90% de la variabilidad explicada. Referencias: Crypto (Cryptophyceae), Dino (Dinophyceae), Bacill (Bacillariophyceae), Hapto (Haptophyceae), Chloro (Chlorophyta), Cyano (Cyanobacteria).

En lo que respecta a las variables explicativas accesorias, estas fueron en general muy frecuentes en los modelos predictivos (Figura IV.12 y 13). Las más frecuentes fueron la profundidad y fecha que aparecieron en 5 y 7 modelos respectivamente, siendo la fecha importante para todos los grupos taxonómicos evaluados, así como para la biomasa total. Por su parte, la estructura térmica y variable lago aparecieron en 3 y 4 modelos respectivamente. Las Bacillariophyceae fue el grupo taxonómico que más variables explicativas compartió (30 veces), mientras que los grupos que menos variables compartieron fueron Chlorophyta (16 veces) seguido de Cryptophyceae (18 veces).

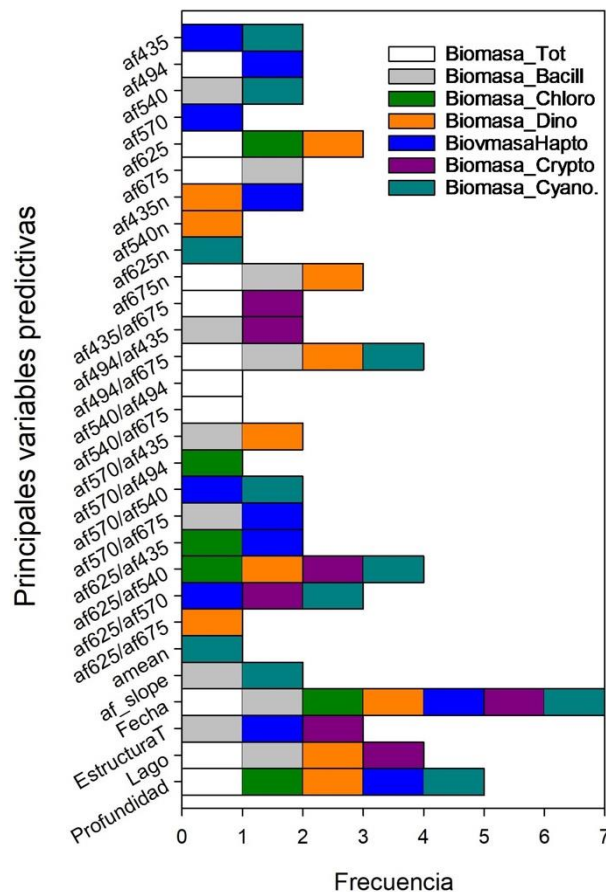


Figura IV.13. Frecuencia de aparición de las principales variables predictivas en los mejores modelos de aprendizaje para cada grupo evaluado. Referencias: Crypto (Cryptophyceae), Dino (Dinophyceae), Bacill (Bacillariophyceae), Hapto (Haptophyceae), Chloro (Chlorophyta), Cyano (Cyanobacteria).

IV.4 Discusión

En el presente Capítulo, se presentó una metodología simple y directa en función de obtener estimaciones de la biomasa y la composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica a partir de la evaluación de los espectros de absorción del fitoplancton. Para esto se utilizaron mediciones en laboratorio de los espectros de absorción en conjunto con métodos de aprendizaje automático basados en arboles de decisión para realizar las estimaciones. En este sentido este estudio constituye una importante contribución puesto que no existen muchos trabajos en ecosistemas acuáticos continentales que utilicen este enfoque metodológico para la descripción de esta importante comunidad.

El fitoplancton interactúa con la luz absorbiéndola y dispersándola. De esta forma, su existencia en los ambientes acuáticos deja una firma espectral que puede medirse tanto en el laboratorio como *in situ* (con espectrofotómetros o espectrofluorómetros), o satelitalmente dado que la absorción de la luz, por los pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores, modifican la radiación que sale del cuerpo del agua (reflectancia). Esta interacción con la luz es el proceso fundamental que ha permitido el estudio remoto de las comunidades fitoplanctónicas. Por ejemplo, diversos trabajos han estimado la dinámica de la biomasa fitoplanctónica mediante la teledetección de la clorofila *a* tanto en ambientes marinos (p.e. Joint & Groom, 2000; Raitos et al., 2013) como en lagos (p.e. Cozar et al., 2012; Binding et al., 2020; Ruiz-Verdú et al., 2008). Boyas automatizadas como las Bio-Argo, también han sido utilizadas para describir la variación de la biomasa fitoplanctónica en la capa superficial y a lo largo de la columna de agua (Anju et al., 2020; Mignot et al., 2014; McKee et al., 2023). Sin embargo, todos estos trabajos se basan en la suposición de una relación estable y lineal entre la concentración de clorofila *a* y la biomasa fitoplanctónica, siendo esta última seriamente afectada por la estructura de la comunidad y el estado fisiológico (Felip & Catalan, 2000; Reynolds, 1984; Vörös & Padisák, 1991). Otros trabajos han estimado la biomasa fitoplanctónica utilizando la firma

espectral de absorción del fitoplancton. Estos modelos denominados *absorption-based-models* en contraposición de los *chlorophyll a-based-models* descritos anteriormente, no dependen de una relación lineal y constante entre las variables en cuestión (Fox et al., 2022; Hirawake et al., 2011; Huot et al., 2007). Los coeficientes de absorción del fitoplancton, $a_f(\lambda)$, pueden ser derivados *in situ* con instrumentos de campo como el ac-9, ac-s (Boss et al., 2013; Oliver et al., 2004; Oubelkheir et al., 2007). Mientras tanto, el producto satelital de $a_f(\lambda)$ también está disponible (Lee et al., 2002; Werdell et al., 2018).

Los coeficientes de absorción del fitoplancton también han sido usados exitosamente para estimar otras características de la comunidad fitoplanctónica como: la estructura de tamaño (Brewin et al., 2011; Hirata et al., 2008; Organelli et al., 2013), composición pigmentaria y taxonómica (Bracher et al., 2017; Bricaud et al., 2007; Sathyendranath et al., 2001; Zhu et al., 2019) y grupos funcionales (IOCCG, 2014 ; Nair et al., 2008) utilizando medidas *in situ* automatizadas o remotas desde el espacio.

El aprendizaje automático es una herramienta de gran importancia en el modelado predictivo en ecología, ya que puede adaptarse a relaciones no lineales complejas que son comunes en ecología. Entre las ventajas de estas técnicas, se destaca su capacidad para procesar grandes volúmenes de datos complejos y descubrir patrones no lineales, sin las limitaciones de los modelos lineales. Además, son flexibles y se adaptan a diferentes tipos de datos y problemas en ecología, pudiendo utilizar datos numéricos y categóricos.

El aprendizaje automático puede realizar tareas de clasificación, regresión, agrupamiento y detección de anomalías, entre otras. Su capacidad para manejar grandes volúmenes de datos es especialmente útil en conjuntos de datos extensos y complejos. Además, estas técnicas pueden identificar las variables más importantes para la predicción, lo que ayuda a comprender los

procesos subyacentes a la variable estudiada. La automatización y eficiencia de estos modelos permiten realizar predicciones en tiempo real y tomar decisiones para la gestión ambiental.

Sin embargo, es fundamental considerar la calidad de los datos, interpretar adecuadamente los resultados y tener en cuenta el contexto ecológico para obtener conclusiones significativas. Distintos trabajos han utilizado las técnicas multivariadas y de aprendizaje automático para describir características de la comunidad fitoplanctónica. Por ejemplo, Zhu et al. (2019) utilizó redes neuronales para estimar la composición taxonómica del fitoplancton en el mar de China utilizando espectros de reflectancia *in situ* y remotos. Organelli et al. (2013) utilizaron la técnica de Mínimos cuadrados parciales multivariados (PLS, de su sigla en inglés para estimar la estructura de tamaño de la comunidad utilizando los espectros de absorción fitoplanctónicos del mar Mediterráneo. Por otro lado, Raitsos et al. (2008) utilizó redes neuronales para crear un modelo complejo que incorpora datos ecológicos, geográficos, bio-ópticos y de reflectancias para estimar los grupos funcionales del océano Atlántico Norte. Todos estos trabajos mostraron modelos predictivos con una eficiencia de buena a muy buena y coeficientes de regresión que variaron entre 0,53 y 0,88. Estos valores son similares a los obtenidos en nuestro trabajo mediante la utilización de árboles de decisión. En particular, los R^2 para los grupos de validación variaron entre 0,37 y 0,84 con una media de 0,67, indicando que en promedio se logró explicar el 67% de la variación observada en la biomasa fitoplanctónica en los dos lagos estudiados. Con respecto a los errores asociados a las estimaciones, el error medio absoluto (MAE) en nuestros modelos de estimación varió entre 0,20 y 2,63, obteniéndose el menor error en la estimación de la biomasa total fitoplanctónica. Este error está dentro de lo observado en otros modelos de estimación de características de la comunidad fitoplanctónica utilizando valores ópticos como por ejemplo el trabajo de Zhu et al. (2019). Por otro lado, los mejores modelos de aprendizaje automático obtenidos en nuestro trabajo, en regla general, superaron con creces el desempeño de los modelos lineales. Por ejemplo, con respecto al MAE, los

modelos resultantes de las RLM presentaron valores que variaron entre un 35 y un 1460% más altos que los mejores modelos de aprendizaje automático (Tabla IV.1).

Un análisis más detallado de los modelos obtenidos en los dos lagos oligotróficos estudiados muestra que además de la información en los espectros de absorción del fitoplancton son necesarias otras variables que posicionan espacio-temporalmente una muestra en particular, ayudando de esta forma a los modelos a resolver la variable a estimar. Estas variables denominadas accesorias estuvieron presentes en todos los modelos predictivos de biomasa fitoplanctónica, incluso siempre entre las 5 primeras variables principales. Sin embargo, la exclusión de estas variables de los modelos, en regla general, no disminuye de forma importante el desempeño predictivo. Por ejemplo, si las variables accesorias no son incluidas en el modelo predictivo para la biomasa total fitoplanctónica, los resultados utilizando RF siguen mostrando una razonable predicción con un $R^2=0,63$, un $RMSE=89 \mu g/ml$ y un $MAE=0,23 \mu g/ml$. Con respecto a las variables ópticas seleccionadas por los modelos en cuestión, 4 de los 7 modelos obtenidos presentaron variables únicas, es decir no se encuentran en otros modelos. Esto podría indicar una forma directa de estimación. Sin embargo, en solo una ocasión (para la biomasa total), estas variables únicas estuvieron entre las tres primeras variables que más aportaron a la predicción. Por otro lado, 12 de las 29 variables explicativas fueron compartidas por dos grupos distintos. Esto nos indica que son varias las características espectrales necesarias para poder discriminar de los espectros de absorción la contribución a la biomasa por los diferentes grupos. Esta complejización es aceptablemente manejada y resuelta por los modelos de aprendizaje automático resultando en una buena estimación. Esto, por su parte, comprueba parcialmente la hipótesis planteada en este Capítulo, dado que los resultados de la cuantificación de pigmentos no fueron concluyentes y por lo tanto no se incluyeron en los modelos predictivos.

Si bien los resultados obtenidos son promisorios, cabe destacar que este enfoque también tiene limitaciones. Por ejemplo, ciertas restricciones asociadas a la estimación de la biomasa fitoplanctónica utilizando la concentración de clorofila *a* son también aplicables a los modelos basados en los espectros de absorción del fitoplancton, dado que la firma espectral también se ve afectada por la fotoaclimatación y la disponibilidad de nutrientes. Sin embargo, existe el consenso que los espectros de absorción son mejores descriptores de la comunidad fitoplanctónica que la clorofila *a*. Por otro lado, los espectros de absorción están más directamente relacionados con la reflectancia siendo por lo tanto la descripción de la comunidad fitoplanctónica desde el espacio muy prometedora.

IV.5. Anexo

Contribución pigmentos accesorios. Datos asociados a la Figura IV. 2.

Contribución pigmentos accesorios												
ME	P-17		O-18		I-18		P-18		V-19		O-19	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
Clorofila C1 y C2	0.09	± 0.07	0.07	± 0.04	0.08	± 0.01	0.05	± 0.03	0.08	± 0.06	0.06	± 0.04
Fucoxantina	0.19	± 0.09	0.11	± 0.06	0.16	± 0.02	0.32	± 0.04	0.14	± 0.07	0.19	± 0.16
Violaxantina	0	± 0	9.20E-04	± 1.30E-03	5.40E-04	± 3.10E-04	2.00E-03	± 1.80E-03	7.60E-04	± 8.70E-04	1.00E-03	± 1.20E-03
Diadinoxantina	0.01	± 4.20E-03	4.80E-03	± 1.80E-03	0.01	± 1.30E-03	0.01	± 2.40E-03	3.50E-03	± 9.70E-04	4.70E-03	± 3.60E-03
Zeaxantina	3.20E-03	± 2.10E-03	0.01	± 0.01	0.01	± 1.40E-03	4.50E-03	± 2.10E-03	2.40E-03	± 2.80E-03	4.60E-03	± 4.30E-03
Luteína	1.90E-03	± 1.90E-03	2.70E-03	± 3.10E-03	1.40E-03	± 3.20E-04	2.40E-03	± 2.40E-03	1.60E-03	± 2.10E-03	7.30E-04	± 6.40E-04
Clorofila b	4.30E-03	± 4.10E-03	0.01	± 0.01	4.20E-03	± 2.40E-03	1.50E-03	± 2.30E-03	1.70E-03	± 3.70E-03	0	± 0
MO	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
Clorofila C1 y C2	0.11	± 0.05	0.11	± 0.07	0.04	± 0.01	0.08	± 0.01	0.06	± 0.03	0.09	± 0.04
Fucoxantina	0.17	± 0.08	0.23	± 0.19	0.2	± 0.03	0.28	± 0.04	0.1	± 0.04	0.13	± 0.07
Violaxantina	2.40E-03	± 2.20E-03	3.00E-03	± 3.70E-03	0	± 0	3.40E-03	± 1.80E-03	6.60E-04	± 9.90E-04	1.40E-03	± 1.50E-03
Diadinoxantina	0.01	± 2.50E-03	0.01	± 0.01	2.80E-03	± 1.20E-03	0.02	± 0.01	1.50E-03	± 3.70E-04	3.30E-03	± 1.40E-03
Zeaxantina	0.01	± 3.80E-03	0.02	± 0.01	3.60E-03	± 1.80E-03	0.01	± 3.50E-03	7.70E-04	± 9.40E-04	0.01	± 4.50E-03
Luteína	3.60E-03	± 3.90E-03	0.01	± 0.01	1.30E-03	± 3.90E-04	3.50E-03	± 2.10E-03	1.80E-03	± 2.50E-03	3.00E-03	± 2.70E-03
Clorofila b	0.01	± 0.01	0.01	± 0.01	2.50E-03	± 1.20E-03	1.80E-03	± 1.70E-03	0	± 0	1.30E-03	± 1.50E-03

Contribución pigmentos accesorios por fecha y estrato. Datos asociados a la Figura IV.3

ME		P-17		O-18		I-18		P-18		V-19		O-19	
estrato	pigmento	media	desvío	media	desvío	media	desvío	media	desvío	media	desvío	media	desvío
superior	Clorofila C1 y C2	0.11	± 0.05	0.11	± 0.03	0.07	± 3.30E-04	0.09	± 0.01	0.09	± 0.03	0.11	± 0.01
	Fucoxantina	0.13	± 0.07	0.07	± 0.01	0.15	± 2.00E-03	0.3	± 0.04	0.05	± 0.02	0.13	± 0.01
	Violaxantina	0	± 0	1.60E-03	± 2.90E-04	0	± 0	4.50E-03	± 4.50E-04	1.90E-03	± 4.90E-04	2.60E-03	± 4.10E-04
	Diadinoxantina	0.01	± 4.20E-03	3.90E-03	± 1.40E-03	4.30E-03	± 4.00E-04	0.01	± 1.90E-03	3.50E-03	± 2.00E-04	3.80E-03	± 7.70E-04
	Zeaxantina	5.00E-03	± 1.20E-03	0.02	± 3.90E-03	0.01	± 9.10E-04	0.01	± 1.00E-03	0.01	± 3.10E-03	0.01	± 3.40E-03
	Luteína	4.50E-03	± 5.00E-04	3.70E-03	± 6.60E-04	1.10E-03	± 5.60E-05	0.01	± 3.20E-04	4.60E-03	± 1.80E-04	1.50E-03	± 2.80E-04
	Clorofila b	0.01	± 3.60E-03	0.01	± 3.50E-03	3.70E-03	± 6.80E-04	3.90E-03	± 1.90E-03	0.01	± 0.01	0	± 0
	Clorofila C1 y C2	0.21	± 0.08	0.11	± 0.02	0.08	± 2.70E-04	0.05	± 3.60E-03	0.04	± 0.01	0.03	± 2.60E-03
medio	Fucoxantina	0.3	± 3.60E-03	0.12	± 0.01	0.15	± 0.01	0.34	± 0.03	0.18	± 0.06	0.16	± 0.12
	Violaxantina	0	± 0	2.30E-03	± 2.50E-03	6.30E-04	± 6.80E-05	2.20E-03	± 1.20E-03	1.10E-04	± 9.60E-05	8.20E-05	± 1.50E-04
	Diadinoxantina	0.02	± 1.80E-03	0.01	± 1.90E-03	4.40E-03	± 5.60E-04	0.01	± 1.60E-03	3.70E-03	± 1.50E-03	3.80E-03	± 2.20E-03
	Zeaxantina	0.01	± 1.10E-03	0.02	± 3.50E-03	0.01	± 7.40E-04	0.01	± 1.40E-03	6.30E-04	± 3.20E-04	1.10E-03	± 2.50E-04
	Luteína	2.40E-03	± 9.00E-04	0.01	± 0.01	1.30E-03	± 1.10E-04	2.10E-03	± 1.10E-03	3.00E-04	± 6.70E-05	2.50E-04	± 3.90E-05
	Clorofila b	0.01	± 2.40E-03	0.02	± 0.03	2.00E-03	± 9.60E-04	2.50E-03	± 3.60E-03	0	± 0	0	± 0
	Clorofila C1 y C2	0.05	± 0.02	0.04	± 0.02	0.08	± 0.01	0.03	± 0.01	0.13	± 0.11	0.09	± 0.02
	Fucoxantina	0.19	± 0.08	0.13	± 0.07	0.17	± 0.02	0.33	± 0.05	0.17	± 0.06	0.36	± 0.33
inferior	Violaxantina	0	± 0	1.20E-04	± 3.00E-04	6.90E-04	± 1.70E-04	6.50E-04	± 2.40E-04	5.90E-04	± 5.00E-04	1.50E-03	± 1.20E-03
	Diadinoxantina	0.01	± 2.60E-03	4.90E-03	± 2.10E-03	0.01	± 1.20E-03	0.01	± 1.70E-03	3.10E-03	± 5.60E-04	0.01	± 0.01
	Zeaxantina	1.50E-03	± 4.90E-04	4.30E-03	± 4.40E-03	0.01	± 1.70E-03	2.90E-03	± 5.40E-04	1.70E-03	± 1.60E-03	0.01	± 5.50E-04
	Luteína	4.70E-04	± 1.70E-04	1.10E-03	± 1.40E-03	1.60E-03	± 3.00E-04	7.20E-04	± 1.60E-04	4.80E-04	± 3.40E-04	1.00E-03	± 7.00E-04
	Clorofila b	1.20E-03	± 7.20E-04	3.70E-03	± 0.01	0.01	± 2.60E-03	0	± 0	0	± 0	0	± 0
	Clorofila C1 y C2	0.05	± 0.02	0.04	± 0.02	0.08	± 0.01	0.03	± 0.01	0.13	± 0.11	0.09	± 0.02
	Fucoxantina	0.19	± 0.08	0.13	± 0.07	0.17	± 0.02	0.33	± 0.05	0.17	± 0.06	0.36	± 0.33
	Violaxantina	0	± 0	1.20E-04	± 3.00E-04	6.90E-04	± 1.70E-04	6.50E-04	± 2.40E-04	5.90E-04	± 5.00E-04	1.50E-03	± 1.20E-03

MO		P-17		O-18		I-18		P-18		V-19		O-19	
estrato	pigmento	media	desvío	media	desvío	media	desvío	media	desvío	media	desvío	media	desvío
superior	Cloro_C1y2	0.09 ± 0.07		0.18 ± 0.05		0.05 ± 0.02		0.08 ± 0.02		0.09 ± 0.02		0.11 ± 0.03	
	Fucox	0.09 ± 0.04		0.12 ± 0.08		0.21 ± 0.03		0.27 ± 0.06		0.06 ± 0.01		0.11 ± 0.02	
	Violaxa	4.30E-03 ± 2.80E-03		0.01 ± 3.20E-03		0 ± 0		4.40E-03 ± 8.20E-04		1.70E-03 ± 8.10E-04		3.20E-03 ± 6.10E-04	
	Diadinox	0.01 ± 3.00E-03		0.01 ± 3.00E-04		3.60E-03 ± 1.30E-03		0.02 ± 0.01		1.40E-03 ± 5.50E-04		3.10E-03 ± 7.50E-04	
	Zeax	0.01 ± 2.60E-03		0.03 ± 0.01		0.01 ± 1.60E-03		0.01 ± 2.10E-03		1.80E-03 ± 2.00E-04		0.01 ± 1.30E-03	
	Lut	0.01 ± 0.01		0.01 ± 4.30E-03		1.50E-03 ± 3.50E-04		4.70E-03 ± 2.90E-04		3.90E-03 ± 3.20E-03		0.01 ± 1.10E-03	
	Cl_b	0.03 ± 0.02		0.02 ± 0.01		3.00E-03 ± 1.40E-03		2.80E-03 ± 8.60E-04		0 ± 0		2.70E-03 ± 1.30E-04	
medio	Cloro_C1y2	0.15 ± 0.02		0.11 ± 0.03		0.05 ± 2.40E-03		0.07 ± 0		SD		0.13 ± 2.70E-03	
	Fucox	0.17 ± 0.07		0.35 ± 0.32		0.21 ± 0.02		0.3 ± 0		SD		0.2 ± 0.13	
	Violaxa	2.30E-03 ± 1.20E-03		1.90E-03 ± 2.80E-03		0 ± 0		1.40E-03 ± 0		SD		1.60E-03 ± 1.10E-03	
	Diadinox	0.01 ± 2.80E-03		0.01 ± 0.01		3.00E-03 ± 8.00E-04		0.01 ± 0		SD		4.70E-03 ± 1.50E-03	
	Zeax	0.01 ± 4.00E-04		0.02 ± 0.01		3.80E-03 ± 1.50E-03		1.60E-03 ± 0		SD		0.01 ± 3.10E-03	
	Lut	2.70E-03 ± 9.30E-04		0.01 ± 0.01		1.50E-03 ± 9.80E-05		1.00E-03 ± 0		SD		2.80E-03 ± 2.30E-03	
	Cl_b	0.01 ± 2.50E-03		0.01 ± 0.02		2.70E-03 ± 4.80E-05		0 ± 0		SD		2.00E-03 ± 2.20E-03	
inferior	Cloro_C1y2	0.1 ± 0.02		0.04 ± 4.70E-03		0.04 ± 0.01		SD		0.04 ± 2.90E-03		0.06 ± 0.03	
	Fucox	0.23 ± 0.06		0.26 ± 0.17		0.18 ± 0.03		SD		0.12 ± 0.03		0.12 ± 0.06	
	Violaxa	1.10E-03 ± 7.40E-04		0 ± 0		0 ± 0		SD		0 ± 0		7.00E-05 ± 8.20E-05	
	Diadinox	0.01 ± 2.00E-03		0.01 ± 0.01		2.10E-03 ± 1.10E-03		SD		1.50E-03 ± 3.40E-04		2.80E-03 ± 1.50E-03	
	Zeax	0.01 ± 9.30E-04		2.50E-03 ± 1.60E-03		2.20E-03 ± 1.10E-03		SD		9.50E-05 ± 1.70E-04		8.10E-04 ± 5.00E-04	
	Lut	1.30E-03 ± 1.40E-04		9.30E-04 ± 1.80E-04		1.00E-03 ± 3.40E-04		SD		3.30E-04 ± 7.60E-05		6.60E-04 ± 1.00E-04	
	Cl_b	0.01 ± 2.00E-03		0 ± 0		1.90E-03 ± 1.40E-03		SD		0 ± 0		0 ± 0	

CAPÍTULO V

Conclusiones Generales



V. Resultados principales

V.1 Parámetros físicos y químicos

- La mayoría de los parámetros físicos y químicos estudiados variaron de manera sincrónica en los lagos ME y MO. Resaltando la fuerte influencia que ejercen los factores externos, como por ejemplo las variables climáticas.
- La sincronía no necesariamente implicó que las concentraciones sean similares, de hecho, se encontraron diferencias entre los lagos en las concentraciones promedio de varios parámetros (p.e. ad_{435} , COD, PDT, NO_3), lo cual probablemente refleja la diferente conexión con el paisaje, los aportes de las subcuencas y el funcionamiento interno de cada lago.
- Los mayores valores de K_{dPAR} (menor transparencia) en ambos lagos se registraron en el invierno, en línea con un mayor ingreso de material alóctono del medio circundante debido al incremento de las precipitaciones. Por otro lado, los menores K_{dPAR} se observaron en la primavera donde ocurre el efecto de dilución, producto del aumento de los niveles de agua de los lagos debido a las lluvias y el deshielo.
- Se registró por primera vez el establecimiento de una quimioclina de nitrato (nitraclina) en ambos lagos durante los periodos de estratificación. La misma fue particularmente marcada en el hipolimnion del lago ME.
- Hacia el fin del período de estratificación se registró, en el hipolimnion de ambos lagos, una marcada disminución de la concentración de oxígeno disuelto y de su porcentaje de saturación, siendo estos valores menores en el lago ME en comparación con el MO.
- Se encontró una correlación positiva y significativa entre el NOD y el NO_3 en ambos lagos. A su vez, el NO_3 presentó una correlación inversa y significativa con el OD, sugiriendo la existencia de nitrificación en el hipolimnion de estos lagos.

- El lago ME presentó una concentración de nitrato considerablemente mayor que el MO. Esta diferencia puede explicarse por la posición en el paisaje del lago ME, el cual se encuentra aguas arriba, es cuenca de cabecera y tiene mayor aporte de arroyos. Además, este lago presenta un mayor desarrollo volumétrico del estrato inferior (4 veces mayor que el MO). Por esto, el ME actúa como una cubeta de decantación del material proveniente de la cuenca, siendo procesado fundamentalmente en el hipolimnion y luego, es aportado al MO en forma más biodisponible.
- El coeficiente de absorción del detrito (ad_{435}), indicador de la concentración de sólidos totales en suspensión, no varió de manera sincrónica entre lagos y fue mayor en el ME. Esto respalda el mayor aporte de material de la cuenca en este lago respecto al MO, y su función de cubeta de decantación.
- La relación entre el HIX y BIX evidenció que la humificación es mayor en el hipolimnion del ME y que es baja la producción de MOD biológica en el estrato superior de los dos lagos
- El lago ME es más estable térmicamente que el MO, debido a las grandes diferencias volumétricas entre ambos lagos que determina que el índice de estabilidad de Schmidt (SSI) sea 2,57 veces mayor en el ME, siendo necesaria mucha más energía para vencer la inercia del sistema y mezclarse completamente.
- Además, esta mayor estabilidad e inercia del ME produce un desfase, con respecto al MO, en el restablecimiento de la estratificación térmica a comienzos de la primavera.
- La relación NID:PT estuvo por lo general por sobre los valores reportados por Bergström (2010) como indicadores de limitación por nutrientes, señalando un escenario de limitación por fósforo en los dos lagos
- La relación Si:PT evidenció relaciones altas en ambos lagos, indicando que no hay una limitación por sílice.

V.II Fitoplancton

- Se registraron concentraciones de clorofila *a* a profundidades superiores al $Z_{1\%}$, y particularmente entre el 1% y el 0,1% de la irradiancia fotosintéticamente activa incidente en superficie.
- El MO presentó en promedio una mayor concentración de Cla que el ME. Esto podría ser consecuencia del aporte de materia orgánica más procesada desde el lago ME que promueve el desarrollo de esta comunidad.
- Durante los períodos de estratificación, el desarrollo de la fracción del picoplancton (Peuk y Pcy) estuvo principalmente delimitado a los estratos iluminados, superior y medio en ambos lagos. La contribución de esta fracción a la biomasa total fue baja (siempre menor al 20 %).
- La biomasa total en ambos lagos estuvo dominada por el microfitoplancton, siendo la diatomea *Tabellaria fenestrata* la especie más importante. Si bien la composición de especies fue similar entre lagos, la biomasa total fue diferente (mayor en el MO), y presentó desfases temporales en los máximos alcanzados.
- Los ciliados mixotróficos *Ophrydium naumanni*, *Stentor araucanus* y los dinoflagelados *Gymnodinium paradoxum* y *G. uberrimum* se desarrollaron principalmente en los estratos iluminados (superior y medio), siendo importante su contribución a la biomasa total.
- El escenario compartido entre lagos favorece la sincronía de ciertos grupos funcionales como Lo, eSNCM y Z durante la estratificación, ya que las condiciones epilimnéticas propician su desarrollo. En cambio, la falta de sincronía del GF N, y en menor medida de A, se asocia con el desfase que se observa en el establecimiento de la estratificación entre los lagos.

- En concordancia con lo observado para la Cla se registraron especies fitoplanctónicas en toda la columna de agua, superando así ampliamente el límite del Z1%. Como es esperable, el estrato inferior presentó menor presencia fitoplanctónica que los estratos superior y medio, aunque el desarrollo en profundidad de la diatomea *T. fenestrata* fue importante en ambos lagos.
- Los índices comunitarios evidenciaron que el lago ME presentó, en líneas generales, una comunidad fitoplanctónica más diversa que el MO, con menor dominancia y mayor equitatividad.

V.III. Pigmentos

- Se identificaron un total de 13 pigmentos fitoplanctónicos a través del HPLC. Los pigmentos determinados fueron: clorofila *c*, peridina, fucoxantina, violaxantina, diadinoxantina, dinoxantina, aloxantina, zeaxantina, luteína, clorofila *b*, clorofila *a* alómero, clorofila *a* y β -caroteno.
- La fucoxantina fue el pigmento dominante en los tres estratos de la columna de agua (superior, medio e inferior) y se correlacionó de manera significativa con la biomasa de las Bacillariophyceae.
- Se observó que los estratos superiores (entre los 0 y 40 m) presentaron, en general, una mayor diversidad de pigmentos, con importantes contribuciones de fucoxantina, clorofila *b*, zeaxantina y luteína. Mientras que el estrato inferior estuvo ampliamente dominado por la fucoxantina y la clorofila *c*.
- Ambos lagos presentaron un grado de variación similar en los espectros de absorción promedio fitoplanctónicos y se registraron 6 picos principales de absorción a los 495, 535, 540, 570, 625, 675 nm.

- Los modelos de aprendizaje automático mostraron muy buenos resultados en la estimación de la biomasa total fitoplanctónica y de los principales grupos taxonómicos. Esto nos indica que puede utilizarse la información de amplitud y forma de los espectros de absorción fitoplanctónicos para describir la dinámica espacio-temporal de la comunidad, así como su estructura taxonómica.

V.2 Conclusiones generales

La presente Tesis Doctoral se centró en el estudio espacio-temporal de la comunidad fotótrofa (fitoplancton + ciliados mixotróficos) en dos lagos andino-patagónicos profundos. En primer lugar, se estudió el escenario físico y químico de la totalidad de la columna de agua a lo largo de un período de 17 meses y su relación/vinculación con los principales factores ambientales e hidrogeomórficos. Los resultados obtenidos aportan información valiosa del funcionamiento de estos lagos, especialmente por el abordaje integral de esta investigación. En segundo lugar, se planteó el estudio de la comunidad fotótrofa a través de métodos tradicionales, como es el estudio taxonómico y el recuento bajo microscopio. De esta forma, se obtuvo una rica información sobre la biodiversidad, estructura y sucesión de esta comunidad. La descripción detallada de la comunidad fotótrofa conjuntamente con la dinámica de parámetros físicos y químicos de los dos lagos andinos estudiados contribuyó al entendimiento del complejo entramado de factores que interactúan con los productores primarios y dan forma a esta comunidad. En especial, el análisis de MFA permitió integrar variables e identificar que las ambientales y físicas fueron las más relevantes en la conformación de los diferentes ensambles. Entre ellas, las precipitaciones y el nivel del agua resultaron las más importantes junto con las variables físicas SSI y temperatura. En ambos lagos, los *biplots* mostraron que las masas de agua se separaron por fecha, y durante la estratificación por estrato. Por último, se complementó e integró el estudio a través de técnicas alternativas que permiten una mayor

frecuencia analítica, como el estudio pigmentario por HPLC de la comunidad y la determinación de los espectros de absorción fitoplanctónicos. Junto con la utilización de técnicas de aprendizaje automático, se pudo extraer valiosa información de los espectros de absorción para el estudio de la comunidad y su caracterización. Estas técnicas bio-ópticas complementan al análisis taxonómico tradicional permitiendo ampliar el análisis de la comunidad a escalas espacio-temporales mayores. Esto resulta de gran importancia para futuras investigaciones de los cuerpos de agua continentales. Estos ambientes, de una incalculable importancia para la humanidad, se encuentran bajo el creciente impacto de factores de cambio ambiental como el cambio climático y la eutrofización, haciendo indispensable la existencia de técnicas que nos permitan evaluar los efectos y las respuestas ecosistémicas a escalas temporales apropiadas. Por su parte, esto redundará en la preservación y gestión sostenible de los recursos acuáticos y de sus servicios ecosistémicos.

En resumen, los resultados obtenidos en esta Tesis aportan información valiosa para comprender el funcionamiento de los lagos andinos, su biodiversidad y su dinámica física y química, así como para entender la complejidad de los factores que interactúan en las tramas tróficas acuáticas.



Integrantes del laboratorio del Grupo de Ecología de Sistemas Acuáticos a escala del Paisaje de izquierda a derecha, de arriba hacia abajo, Primera fila: Soto Cárdenas, Carolina Estela; Castro, Victoria; Abraham, Soledad; Gianello, Diamela; Diéguez, María del Carmen; Pérez, Gonzalo Luis; Gereá, Marina; Queimaliños, Claudia Patricia; Albariño, Ricardo. Fila de abajo: Fernández, Zaida; Reissig, Mariana; Mansilla Ferro, Carolina; García, Patricia Elizabeth; García, Daniel Roberto; De Stefano, Lucía Gabriela; Jara, Fabián (octubre 2022).

Bibliografía General

- Abell, R., Thieme, M., Ricketts, T.H., Olwero, N., Ng, R., Petry, P., Dinerstein, E., Revenga, C., & Hoekstra, J., 2011. Concordance of freshwater and terrestrial biodiversity. *Conservation Letters* 4: 127–136.
- Adams, M.A., Buckley, T.N., Binkley, D., Neumann, M., & Turnbull, T.L., 2021. CO₂, nitrogen deposition and a discontinuous climate response drive water use efficiency in global forests. *Nature Communications* 12: 5194.
- Adolf, J.E., Stoecker, D.K., & Harding Jr, L. W., 2006. The balance of autotrophy and heterotrophy during mixotrophic growth of *Karlodinium micrum* (Dinophyceae). *Journal of Plankton Research* 28(8): 737–751.
- Adrian, R., O'Reilly, C.M., Zagarese, H., Baines, S.B., Hessen, D.O., Keller, W., ... & Winder, M., 2009. Lakes as sentinels of climate change. *Limnology and Oceanography* 54: 2283–2297.
- Ahonen, S.A., Seppälä, J., Karjalainen, J.S., Kuha, J., & Vähätalo, A.V., 2023. Increasing air temperature relative to water temperature makes the mixed layer shallower, reducing phytoplankton biomass in a stratified lake. *Freshwater Biology*.
- AIC, 2019. Informes Hidrometeorológicos 2017–2019. Río Negro, Argentina: Autoridad Interjurisdiccional de Cuencas.
- Aiken, G., 2014. Fluorescence and dissolved organic matter: a chemist's perspective. *En Aquatic organic matter fluorescence* 35, 35.
- Alonso, C., Rocco, V., Barriga, J.P., Battini, M.A., & Zagarese, H., 2004. Surface avoidance by freshwater zooplankton: Field evidence on the role of ultraviolet radiation. *Limnology and Oceanography* 49(1): 225–232.
- Anderson, T.L., Sheppard, L.W., Walter, J.A., Hendricks, S.P., Levine, T.D., White, D.S., & Reuman, D.C. 2019. The dependence of synchrony on timescale and geography in freshwater plankton. *Limnology and Oceanography* 64(2): 483–502.
- Anju, M., Sreeush, M.G., Valsala, V., Smith, B.R., Hamza, F., Bharathi, G., & Naidu, C.V., 2020. Understanding the role of nutrient limitation on plankton biomass over Arabian Sea via 1-D coupled biogeochemical model and bio-Argo observations. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 125(6): e2019JC015502.
- APHA, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association.
- Babin, M., Stramski, D., Ferrari, G.M., Claustre, H., Bricaud, A., Obolensky, G., & Hoepffner, N., 2003. Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles, and dissolved organic matter in coastal waters around Europe. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 108(C7).
- Bachmann, R.W., & Canfield, D.E., 1996. Use of an alternative method for monitoring total nitrogen concentrations in Florida lakes. *Hydrobiologia* 323: 1–8.
- Baigún, C., & Marinone, M.C., 1995. Cold-temperate lakes of South America: do they fit northern hemisphere models? *Archiv fur Hydrobiologie* 135: 23–51.
- Baines, S.B., Webster, K.E., Kratz, T.K., Carpenter, S.R., & Magnuson, J.J., 2000. Synchronous behavior of temperature, calcium, and chlorophyll in lakes of northern Wisconsin. *Ecology* 81(3): 815–825.
- Balseiro, E., Modenutti, B., Queimaliños, C., & Reissig, M., 2007. *Daphnia* distribution in Andean Patagonian lakes: effect of low food quality and fish predation. *Aquatic Ecology* 41: 599–609.
- Balseiro, E., Souza, M. S., Serra Olabuenaga, I., Wolinski, L., Bastidas Navarro, M., Laspoumaderes, C., & Modenutti, B., 2014. Effect of the Puyehue-Cordon Caulle volcanic

- complex eruption on crustacean zooplankton of Andean lakes. *Ecología Austral* 24(1): 75–82.
- Banse, K., 1976. Rates of growth, respiration and photosynthesis of unicellular algae as related to cell size—a review 1, 2. *Journal of Phycology* 12(2): 135–140.
 - Baretta, J. W., Ebenhöh, W., & Ruardij, P., 1995. The European regional seas ecosystem model, a complex marine ecosystem model. *Netherlands Journal of Sea Research* 33(3-4): 233–246.
 - Barriga, J. P., 2006. La distribución espacio-temporal, el crecimiento y la alimentación de larvas y juveniles de *Galaxias* (Pisces, Galaxiidae) en lagos y ríos patagónicos. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche.
 - Barriga, J.P., Battini, M.A., Macchi, P.J., Milano, D., & Cussac, V. E., 2002. Spatial and temporal distribution of landlocked *Galaxias maculatus* and *Galaxias platei* (Pisces: Galaxiidae) in a lake in the South American Andes. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 36(2): 345–359.
 - Barros, V.R., Boninsegna, J.A., Camilloni, I.A., Chidiak, M., Magrín, G.O., & Rusticucci, M., 2015. Climate change in Argentina: trends, projections, impacts and adaptation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change* 6(2): 151–169.
 - Battin, T.J., Luyssaert, S., Kaplan, L.A., Aufdenkampe, A.K., Richter, A., & Tranvik, L.J., 2009. The boundless carbon cycle. *Nature Geoscience* 2(9): 598–600.
 - Bayer, T.K., 2013. Effects of climate change on two large, deep oligotrophic lakes in New Zealand (Doctoral dissertation, University of Otago).
 - Bayer, T.K., Schallenberg, M., & Burns, C.W., 2016. Contrasting controls on phytoplankton dynamics in two large, pre-alpine lakes imply differential responses to climate change. *Hydrobiologia* 771: 131–150.
 - Beamud, S.G., Diaz, M.M., Baccalá, N.B., & Pedrozo, F.L., 2010. Analysis of patterns of vertical and temporal distribution of phytoplankton using multifactorial analysis: Acidic Lake Cavihue, Patagonia, Argentina. *Limnologia* 40(2): 140–147.
 - Belzile, C., Vincent, W.F., & Kumagai, M., 2002. Contribution of absorption and scattering to the attenuation of UV and photosynthetically available radiation in Lake Biwa. *Limnology and Oceanography* 47(1): 95–107.
 - Berg, G.M., Glibert, P.M., Lomas, M.W., & Burford, M.A., 1997. Organic nitrogen uptake and growth by the chrysophyte *Aureococcus anophagefferens* during a brown tide event. *Marine Biology* 129: 377–387.
 - Bergström, A.K. 2010. The use of TN:TP and DIN:TP ratios as indicators for phytoplankton nutrient limitation in oligotrophic lakes affected by N deposition. *Aquatic Sciences* 72(3): 277–281. <https://doi.org/10.1007/s00027-010-0132-0>
 - Bergström, A.K., & Jansson, M., 2006. Atmospheric nitrogen deposition has caused nitrogen enrichment and eutrophication of lakes in the northern hemisphere. *Global Change Biology* 12(4): 635–643.
 - Bertilsson, S., & Tranvik, L.J., 2000. Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnology and Oceanography* 45(4): 753–762.
 - Bessera, E.M., & Moretti, A.E., 1993. Propuesta de desarrollo productivo integrado agro-silvo-pastoril para Colonia Suiza. 1) Lineamientos y Directrices Generales de manejo. Prov. de Río Negro: Convenio Univ. Nac. Comahue.
 - Beutel, M.W., & Horne, A.J., 2018. Nutrient fluxes from profundal sediment of ultra-oligotrophic Lake Tahoe, California/Nevada: Implications for water quality and management in a changing climate. *Water Resources Research* 54: 1549–1559. <https://doi.org/10.1002/2017WR020907>

- Bi, R., Cao, Z., Ismar-Rebitz, S.M., Sommer, U., Zhang, H., Ding, Y., & Zhao, M., 2021. Responses of marine Diatom-Dinoflagellate competition to multiple environmental drivers: Abundance, elemental, and biochemical aspects. *Frontiers in Microbiology* 12: 731786.
- Biddanda, B., 2017. Global significance of the changing freshwater carbon cycle. *Eos*:98.
- Bidigare, R., Morrow, J., & Kiefer, D., 1989. Derivative analysis of spectra absorption by photosynthetic pigments in the western Sargasso Sea. *Journal of Marine Research* 47: 323–341.
- Binding, C.E., Stumpf, R.P., Shuchman, R.A., & Sayers, M.J., 2020. Advances in remote sensing of Great Lakes algal blooms. *Contaminants of the Great Lakes* 217–232.
- Birdwell, J.E., Engel, A.S., 2010. Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy. *Organic Geochemistry* 41 (3): 270–280.
- Blough, N.V., Del Vecchio, R., 2002. Chromophoric DOM in the coastal environment. En: *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*; Hansell, D.A., Carlson, C.A. (Eds.), Academic Press: San Diego, CA, USA, pp. 509–546.
- Boehrer, B., & Schultze, M., 2008. Stratification of lakes. *Reviews of Geophysics* 46(2): RG2005.
- Boehrer, B., von Rohden, C., & Schultze, M., 2017. Physical features of meromictic lakes: stratification and circulation. *Ecology of meromictic lakes*, pp. 15–34.
- Boisvenue, C., & Running, S.W., 2006. Impacts of climate change on natural forest productivity—evidence since the middle of the 20th century. *Global Change Biology* 12(5): 862–882.
- Borics, G., B-Béres, V., Bácsi, I., Lukács, B. A., T-Krasznai, E., Botta-Dukát, Z., & Várbíró, G., 2020. Trait convergence and trait divergence in lake phytoplankton reflect community assembly rules. *Scientific Reports* 10(1): 19599.
- Boss, E., Picheral, M., Leeuw, T., Chase, A., Karsenti, E., Gorsky, G., Taylor, L., Slade, W., Ras, J., & Claustre, H., 2013. The characteristics of particulate absorption, scattering and attenuation coefficients in the surface ocean; Contribution of the Tara Oceans expedition. *Methods in Oceanography* 7: 52–62.
- Bracchini, L., Dattilo, A. M., Hull, V., Loisel, S. A., Nannicini, L., Picchi, M. P., ... & Rossi, C., 2010. Spatial and seasonal changes in optical properties of autochthonous and allochthonous chromophoric dissolved organic matter in a stratified mountain lake. *Photochemical & Photobiological Sciences* 9: 304–314.
- Bracher, A., Bouman, H.A., Brewin, R.J., Bricaud, A., Brotas, V., Ciotti, A.M., ... & Wolanin, A., 2017. Obtaining phytoplankton diversity from ocean color: a scientific roadmap for future development. *Frontiers in Marine Science* 4: 55.
- Breiman, L., 2001. Random forests. *Machine learning* 45: 5–32.
- Brewin, R.J., Devred, E., Sathyendranath, S., Lavender, S.J., & Hardman-Mountford, N.J., 2011. Model of phytoplankton absorption based on three size classes. *Applied Optics* 50(22): 4535–4549.
- Bricaud, A., & Stramski, D., 1990. Spectral absorption coefficients of living phytoplankton and nonalgal biogenous matter: A comparison between the Peru upwelling area and the Sargasso Sea. *Limnology and Oceanography* 35(3): 562–582.
- Bricaud, A., Mejia, C., Blondeau-Patissier, D., Claustre, H., Crepon, M., & Thiria, S., 2007. Retrieval of pigment concentrations and size structure of algal populations from their absorption spectra using multilayered perceptrons. *Applied Optics* 46(8): 1251–1260.
- Bronk, D.A., See, J.H., Bradley, P., & Killberg, L., 2007. DON as a source of bioavailable nitrogen for phytoplankton. *Biogeosciences* 4(3): 283–296.

- Bukaveckas, P.A., & Robbins-Forbes, M., 2000. Role of dissolved organic carbon in the attenuation of photosynthetically active and ultraviolet radiation in Adirondack lakes. *Freshwater Biology* 43(3): 339–354.
- Burkholder, J.M., Glibert, P.M., & Skelton, H.M., 2008. Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. *Harmful Algae* 8(1): 77–93.
- Callieri, C., Cabello-Yeves, P.J., & Bertoni, F., 2022. The “dark side” of picocyanobacteria: Life as we do not know it (yet). *Microorganisms* 10(3): 546.
- Callieri, C., Mandolini, E., Bertoni, R., Lauceri, R., Picazo, A., Camacho, A., & Cabello-Yeves, P. J., 2021. Atlas of picocyanobacteria monoclonal strains from the collection of CNR-IRSA, Italy. *Journal of Limnology* 80(1): 1–11.
- Callieri, C., Modenutti, B., Queimaliños, C., Bertoni, R., & Balseiro, E., 2007. Production and biomass of picophytoplankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquatic Ecology* 41: 511–523.
- Carpenter, S.R., Benson, B.J., Biggs, R., Chipman, J.W., Foley, J.A., Golding, S.A., ... & Yuan, H., 2007. Understanding regional change: a comparison of two lake districts. *Bioscience* 57(4): 323–335.
- Carpenter, S.R., Cole, J.J., Pace, M.L., Van de Bogert, M., Bade, D.L., Bastviken, D., ... & Kratzberg, E.S., 2005. Ecosystem subsidies: terrestrial support of aquatic food webs from ¹³C addition to contrasting lakes. *Ecology* 86(10): 2737–2750.
- Catalan, J., Ballesteros, E., Camarero, L., Felip, M., & Gacia, E., 1992. Limnology in the Pyrenean lakes. *Limnetica* 8(1): 27–38.
- Catalan, J., Camarero, L., Felip, M., Pla, S., Ventura, M., Buchaca, T., ... & Quijano, D. D., 2006. High mountain lakes: extreme habitats and witnesses of environmental changes. *Limnetica* 25(1-2): 551–584.
- Chen, T., & Guestrin, C., 2016. Xgboost: A scalable tree boosting system. En *Proceedings of the 22nd acm sigkdd international conference on knowledge discovery and data mining* (pp. 785–794).
- Chen, T., & Guestrin, C., 2016. XGBoost: A scalable tree boosting system. In *Proceedings of the 22nd ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining, KDD '16*, pp. 785–794, New York, NY, USA, 2016. ACM. Adv. Neural Inf. Process. Syst, 30.
- Choudhary, S., Nayak, G.N., & Khare, N., 2022. Nutrient cycling and productivity in Antarctic lakes. *Assessing the Antarctic environment from a climate change perspective: An integrated approach*, 141–152.
- Christie-Oleza, J.A., Armengaud, J., Guerin, P., & Scanlan, D.J., 2015. Functional distinctness in the exoproteomes of marine *Synechococcus*. *Environmental Microbiology*, 17(10): 3781–3794.
- Clevinger C.C., Heath R.T., Bade D.T., 2014. Oxygen use by nitrification in the hypolimnion and sediments of Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research*, 40(1): 202–207. doi:10.1016/j.jglr.2013.09.015
- Cloern, J.E., & Dufford, R., 2005. Phytoplankton community ecology: principles applied in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series* 285: 11–28.
- Cloern, J.E., 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223–253.
- Coats, R., Pérez-Losada, J., Schladow, G., Richards, R., & Goldman, C., 2006. The warming of lake Tahoe. *Climatic Change* 76(1-2): 121–148.
- Cole, J.J., Prairie, Y.T., Caraco, N.F., McDowell, W.H., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., et al., 2007. Plumbing the global carbon cycle: integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. *Ecosystems* 10: 172–185.

- Costa, L.S., Huszar, V.L.M., Ovalle, A.R., 2009. Phytoplankton Functional Groups in a Tropical Estuary: Hydrological Control and Nutrient Limitation. *Estuaries and Coasts* 32: 508–521.
- Crisci, C., Ghattas, B., & Perera, G., 2012. A review of supervised machine learning algorithms and their applications to ecological data. *Ecological Modelling* 240: 113–122.
- De Stasio, B.T. Jr., Hill, D.K., Kleinhans, J.M., Nibbelink, N.P., & Magnuson, J.J., 1996. Potential effects of global climate change on small north-temperate lakes: Physics, fish, and plankton. *Limnology and Oceanography* 41(5): 1136–1149.
- De Stefano, L.G., Valdivia, A.S., Gianello, D., Gereá, M., Reissig, M., García, P.E., García, R.D., Soto Cárdenas, C., Diéguez, M.C., Queimaliños, C.P., & Pérez, G.L., 2022. Using CDOM spectral shape information to improve the estimation of DOC concentration in inland waters: A case study of Andean Patagonian Lakes. *Science of The Total Environment* 824: 153752.
- Del Vecchio, R., Blough, N.V., 2004. Spatial and seasonal distribution of chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the Middle Atlantic Bight. *Marine Chemistry* 89: 169–187.
- Descy, J.-P., Higgins, H.W., Mackey, D.J., Hurley, J.P., & Frost, T.M., 2000. Pigment ratios and phytoplankton assessment in northern Wisconsin lakes. *Journal of Phycology* 36: 274–286.
- Diaz M.M., Pedrozo, F., Baccalá, N., 2000. Summer classification of Southern Hemisphere temperate lakes. *Lake Reservoir Management* 5: 213–229.
- Diaz, M.M., Pedrozo, F.L., & Temporetti, P.F., 1998. Phytoplankton of two Araucanian lakes of differing trophic status (Argentina). In *Phytoplankton and Trophic Gradients: Proceedings of the 10th Workshop of the International Association of Phytoplankton Taxonomy & Ecology (IAP)*, held in Granada, Spain, 21–29 June 1996 (pp. 45–57). Springer Netherlands.
- Diaz, M., Pedrozo, F., Reynolds, C., & Temporetti, P., 2007. Chemical composition and the nitrogen-regulated trophic state of Patagonian lakes. *Limnologia* 37(1):17–27.
- Diehl, P., Mazzarino, M.J., Funes, F., Fontenla, S., Gobbi, M., Ferrari, J., 2003. Nutrient conservation strategies in native Andean Patagonian forests. *Journal of Vegetation Science*, 14 (1): 63–70.
- Diehl, S., Berger, S., Ptacnik, R., Wild, A., 2002. Phytoplankton, light, and nutrients in a gradient of mixing depths: field experiments. *Ecology* 83: 399–411.
- Dommain R., Couwenberg J., Glaser P.H., Joosten H., Suryadiputra I.N.N., 2014. Carbon storage and release in Indonesian peatlands since the last deglaciation. *Quaternary Science Reviews* 97: 1–32.
- Dortch, Q., 1990. The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton. *Marine ecology progress series* 61:183–201.
- Downing, J.A., Prairie, Y.T., Cole, J.J., Duarte, C. M., Tranvik, L.J., Striegl, R.G., McDowell, W.H., Kortelainen, P., Caraco, N.F., Melack, J.M., & Middelburg, J. J., 2006. The global abundance and size distribution of lakes, ponds, and impoundments. *Limnology & Oceanography* 51: 2388–2397.
- Eker-Develi, E., Kideys, A.E., Mikaelyan, A., Devlin, M.J., & Newton, A., 2022. Phytoplankton Dynamics Under Climate Change. *Frontiers in Marine Science*, 9, 86961.
- Elliott, A., Irish, A.E., & Reynolds, C.S., 2001. The effects of vertical mixing on a phytoplankton community: a modelling approach to the intermediate disturbance hypothesis. *Freshwater Biology* 46: 1291–1297.
- Engel, F., Farrell, K.J., McCullough, I.M., Scordo, F., Denfeld, B.A., Dugan, H.A., de Eyto, E., Hanson, P.C., McClure, R.P., Nöges, P., Nöges, T., Ryder, E., Weathers, K.C.,

- Weyhenmeyer, G.A., 2018. A lake classification concept for a more accurate global estimate of the dissolved inorganic carbon export from terrestrial ecosystems to inland waters. *The Science of Nature* 105: 25.
- Escofier, B., & Pages, J., 1994. Multiple factor analysis (AFMULT package). *Computational statistics & data analysis* 18(1): 121–140.
 - Evans, C.D., Chapman, P.J., Clark, J.M., Monteith, D.T., & Cresser, M.S., 2006. Alternative explanations for rising dissolved organic carbon export from organic soils. *Global Change Biology* 12(11): 2044–2053.
 - Fagerberg, T., Carlsson, P., & Lundgren, M., 2009. A large molecular size fraction of riverine high molecular weight dissolved organic matter (HMW DOM) stimulates growth of the harmful dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Harmful Algae* 8(6): 823–831.
 - Falkowski, P.G., 1994. The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles. *Photosynthesis Research* 39: 235–258.
 - Fan, C., Glibert, P.M., & Burkholder, J.M., 2003. Characterization of the affinity for nitrogen, uptake kinetics, and environmental relationships for *Prorocentrum minimum* in natural blooms and laboratory cultures. *Harmful Algae* 2(4): 283–299.
 - Farrant, G.K., Doré, H., Cornejo-Castillo, F.M., Partensky, F., Ratn, M., Ostrowski, M., ... & Garczarek, L., 2016. Delineating ecologically significant taxonomic units from global patterns of marine picocyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(24): E3365–E3374.
 - Fasham, M.J.R., Ducklow, H.W., McKelvie, S.M., 1990. A nitrogen-based model of plankton dynamics in the oceanic mixed layer. *Journal of Marine Research* 48: 591–639.
 - Felip, M., & Catalan, J., 2000. The relationship between phytoplankton biovolume and chlorophyll in a deep oligotrophic lake: decoupling in their spatial and temporal maxima. *Journal of Plankton Research* 22(1): 91–106.
 - Ferreyra, M., Cingolani, A., Ezcurra, C., & Bran, D., 1998. High-Andean vegetation and environmental gradients in northwestern Patagonia, Argentina. *Journal of Vegetation Sciences* 9: 307–316.
 - Fichot, C.G., & Benner, R., 2012. The spectral slope coefficient of chromophoric dissolved organic matter (S_{275–295}) as a tracer of terrigenous dissolved organic carbon in river-influenced ocean margins. *Limnology and Oceanography* 57: 1453–1466.
 - Field, C.B., Behrenfeld, M.J., Randerson, J.T., & Falkowski, P., 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281: 237–240.
 - Finkel, Z.V., Beardall, J., Flynn, K.J., Quigg, A., Rees, T.A.V., & Raven, J.A., 2010. Phytoplankton in a changing world: Cell size and elemental stoichiometry. *Journal of Plankton Research* 32: 119–137.
 - Finlay, J.C., Sterner, R.W., & Kumar, S., 2007. Isotopic evidence for in-lake production of accumulating nitrate in Lake Superior. *Ecological Applications* 17(8): 2323–2332.
 - Foissner, W., & Woelfl, S., 1994. Revision of the genus *Stentor* Oken (Protozoa, Ciliophora) and description of *S. araucanus* nov. spec. from South American lakes. *Journal of Plankton Research* 16: 255–289.
 - Foley, B., Jones, I.D., Maberly, S. C., & Rippey, B., 2011. Long-term changes in oxygen depletion in a small temperate lake: effects of climate change and eutrophication. *Freshwater Biology* 57(2): 278–289.
 - Fox, J., Kramer, S.J., Graff, J.R., Behrenfeld, M.J., Boss, E., Tilstone, G., & Halsey, K.H., 2022. An absorption-based approach to improved estimates of phytoplankton biomass and net primary production. *Limnology and Oceanography Letters* 7(5): 419–426.

- Gallardo, B., Gascón, S., Quintana, X., & Comín, F.A., 2011. How to choose a biodiversity indicator-redundancy and complementarity of biodiversity metrics in a freshwater ecosystem. *Ecological Indicators* 11: 1177–1184.
- Galloway, J.N., & Cowling, E.B., 2002. Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. *Ambio* 31: 64–71.
- Galloway, J.N., et al., 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70: 153–226.
- Garcia, P.E., Gereá, M., & Diéguez, M.C., 2020. Natural levels of hydrogen peroxide (H₂O₂) in deep clear South temperate lakes: Field and laboratory evidence of photo- and biotic production. *Science of the Total Environment* 727: 138641.
- Garcia, R.D., Reissig, M., Queimaliños, C.P., Garcia, P.E., & Dieguez, M.C., 2015. Climate-driven terrestrial inputs in ultraoligotrophic mountain streams of Andean Patagonia revealed through chromophoric and fluorescent dissolved organic matter. *Science of the Total Environment* 521: 280–292.
- Garreaud, R., López, P., Minvielle, M., & Rojas, M., 2013. Large-scale control on the Patagonian climate. *Journal of Climatology* 26: 215–230.
- Gereá, M., Pérez, G., Unrein, F., Soto Cárdenas, C., Morris, D., & Queimaliños, C., 2016. CDOM and the underwater light climate in two shallow North Patagonian lakes: Evaluating the effects on nano and microphytoplankton community structure. *Aquatic Sciences* 79(2): 231–248. <https://doi.org/10.1007/s00027-016-0493-0>.
- Gerroth, J., 2003. Conjugating Green Algae and Desmids. In *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (pp. 353–385). Wehr JD and Sheath RG Eds.
- Gerten, D., & Adrian, R., 2001. Differences in the persistency of the North Atlantic Oscillation signal among lakes. *Limnology and Oceanography* 46: 448–455.
- Gleick, P.H., 1996. Water Resources. En: Schneider, S.H., Ed., *Encyclopedia of Climate and Weather*, Oxford University Press, New York, Vol. 2, 817–823.
- Glibert, P.M., 2016. Margalef revisited: a new phytoplankton mandala incorporating twelve dimensions, including nutritional physiology. *Harmful Algae*, 55, 25–30.
- Glibert, P.M., Burkholder, J.M., Kana, T.M., Alexander, J., Skelton, H., & Shilling, C., 2009. Grazing by *Karenia brevis* on *Synechococcus* enhances its growth rate and may help to sustain booms. *Aquatic Microbial Ecology* 55: 17–30.
- Goldman, C.R., & Jassby, A., 1990. Spring Mixing Depth as a Determinant of Annual Primary Production in Lakes. In T.J. Butler & W.N. McFarland (Eds.), *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea* (pp. 125–132). Springer.
- Gonsior, M., Mitchelmore, C.L., Heyes, A., Harir, M., Timko, S.A., Cooper, W.T., Podgorski, D.C., & Cooper, W.J., 2013. Molecular-level changes of dissolved organic matter along the Amazon River-to-Sea continuum. *Marine Chemistry* 157: 157–166.
- Goolsby, D.A., & Battaglin, W.A., 2001. Long-term changes in concentrations and flux of nitrogen in the Mississippi River Basin, USA. *Hydrological Processes* 15: 1209–1226.
- Grébert, T., Doré, H., Partensky, F., Farrant, G.K., Boss, E.S., Picheral, M., ... & Garczarek, L. 2018. Light color acclimation is a key process in the global ocean distribution of *Synechococcus* cyanobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115(9): E2010–E2019.
- Green, S.A., & Blough, N.V., 1994. Optical absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. *Limnology and Oceanography* 39: 1903–1916.
- Guinder, V.A., Popovich, C.A., Molinero, J.C., & Perillo, G.M., 2010. Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine Biology* 157(12): 2703–2716.

- Guiry, M.D. & Guiry, G.M., 2023. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>
- Håkanson, L., 2012. Origin of lakes and their physical characteristics. In L. Bengtsson, R.W. Herschy, & R.W. Fairbridge (Eds.), *Encyclopedia of Lakes and Reservoirs* (pp. 585–593). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4410-6>. Dordrecht.
- Hamilton, D.P., O'Brien, K.R., Burford, M.A., et al., 2010. Vertical distributions of chlorophyll in deep, warm monomictic lakes. *Aquatic Sciences* 72: 295–307. <https://doi.org/10.1007/s00027-010-0131-1>
- Hampton, S., Izemeteva, L., Moore, M., Katz, S., Dennis, B., & Silow, E., 2008. Sixty years of environmental change in the world's largest freshwater lake – Lake Baikal, Siberia. *Global Change Biology* 14: 1–12.
- Hanson, P. C., Carpenter, S. R., Armstrong Stanley, E. H., & Kratz, T. K., 2006. Lake dissolved organic carbon and dissolved oxygen: changing drivers from days to decades. *Ecological Monographs* 76: 343–363.
- Hecky, R.E., & Kling, H.J., 1981. The phytoplankton and protozooplankton of the euphotic zone of Lake Tanganyika: Species composition, biomass, chlorophyll content, and spatio-temporal distribution 1. *Limnology and Oceanography* 26(3): 548–564.
- Heino, J., Mykrä, H., Hämäläinen, H., Aroviita, J., & Muotka, T., 2007. Responses of taxonomic distinctness and species diversity indices to anthropogenic impacts and natural environmental gradients in stream macroinvertebrates. *Freshwater Biology* 52: 1846–1861.
- Helbling, E.W., Holm-Hansen, O., & Villafañe, V., 1994. Effects of ultraviolet radiation on Antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. *Antarctic Research Series* 62: 207–227.
- Helms, J.R., Stubbins, A., Ritchie, J.D., Minor, E.C., Kieber, D.J., & Mopper, K., 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 53: 955–969.
- Henson, S.A., Cael, B.B., Allen, S.R., & Dutkiewicz, S., 2021. Future phytoplankton diversity in a changing climate. *Nature Communications* 12(1): 5372.
- Herber, J., Klotz, F., Frommeyer, B., Weis, S., Straile, D., Kolar, A., Sikorski, J., Egert, M., Dannenmann, M., Pester, M., 2020. A single *Thaumarchaeon* drives nitrification in deep oligotrophic Lake Constance. *Environmental microbiology* 22(1): 212–228.
- Hill, M.O. (1973). Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology*, 54, 427–473.
- Hill, R.A., Weber, M.H., Debbout, R.M., Leibowitz, S.G., & Olsen, A.R., 2018. The Lake-Catchment (LakeCat) Dataset: characterizing landscape features for lake basins within the conterminous USA. *Freshwater Science* 37(2): 208–221.
- Hillebrand, H., Bennett, D.M., & Cadotte, M.W., 2008. Consequences of dominance: A review of evenness effects on local and regional ecosystem processes. *Ecology* 89: 1510–1520.
- Hillebrand, H., Dürselen, C.D., Kirschtel, D., Pollingher, U., & Zohary, T., 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35(2):403–424.
- Hilton, R. G., & West, A. J., 2020. Mountains, erosion and the carbon cycle. *Nature Reviews Earth & Environment* 1(6): 284–299. <http://doi:10.1038/s43017-020-0058-6>.
- Hirata, T., Aiken, J., Hardman-Mountford, N., Smyth, T.J., & Barlow, R.G., 2008. An absorption model to determine phytoplankton size classes from satellite ocean colour. *Remote Sensing of Environment* 112(6): 3153–3159.

- Hirawake, T., Takao, S., Horimoto, N., Ishimaru, T., Yamaguchi, Y., & Fukuchi, M., 2011. A phytoplankton absorption-based primary productivity model for remote sensing in the Southern Ocean. *Polar Biology* 34: 291–302.
- Hu, R., Lan, Y.Q., Xiao, L.J., Han, B.P., 2015. The concepts, classification and application of freshwater phytoplankton functional groups. *Journal Lake Science* 27: 11–23.
- Huber-Pestalozzi, G., 1941. Chrysophyceae, Farblose flagellaten Heterokonten. Das phytoplankton des Susswassers Band XVI, Teil 2. (Thienemann A, ed). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Huber-Pestalozzi, G., 1968. Cryptophyceae, Chloromonadophyceae, Dinophyceae. Das phytoplankton des Susswassers Band XVI, Teil 3. (Thienemann A, ed). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Huber-Pestalozzi, G., 1983. Chlorophyceae, Chlorococcales. Das phytoplankton des Susswassers Band XVI, Teil 7. (Thienemann A, ed). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- Hudson, N., Baker, A., Reynolds, D., 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review. *River Research and Applications* 23(6): 631–649.
- Huisman, J., Sharples, J., Stroom, J.M., Visser, P.M., Kardinaal, W.E.A., Verspagen, J.M.H., & Sommeijer, B., 2004. Changes in turbulent mixing shift competition for light between phytoplankton species. *Ecology* 85: 2960–2970.
- Huisman, J., Weissing, F.J., 1995. Competition for nutrients and light in a mixed water column: a theoretical analysis. *Am. Nat.*, 146: 536–564.
- Huot, Y., Babin, M., Bruyant, F., Grob, C., Twardowski, M.S., & Claustre, H., 2007. Does chlorophyll a provide the best index of phytoplankton biomass for primary productivity studies? *Biogeosciences discussions* 4(2): 707–745.
- Hutchins, D.A., Pustizzi, F., Hare, C.E., DiTullio, G.R., 2003. A shipboard natural community continuous culture system for ecologically relevant low-level nutrient enrichment experiments. *Limnology and Oceanography-Methods* 1: 82–91.
- Hutchinson, G.E., 1957. A treatise on limnology, v. 1. Wiley. 1015 p.
- Hutchinson, T.C., 1967. Comparative studies of the ability of species to withstand prolonged periods of darkness. *The Journal of Ecology* 291–299.
- Idso, S.B., 1973. On the concept of lake stability. *Limnology and Oceanography* 18: 681–683.
- Imberger, J. (Ed.), 1998. Physical processes in lakes and oceans (Vol. 54). American Geophysical Union.
- IOCCG, 2014. Phytoplankton Functional Types from Space. Sathyendranath, S. (Ed.), Reports of the International Ocean-Colour Coordinating Group, No. 15, IOCCG, Dartmouth, Canada.
- Iriondo, M., 1989. Quaternary lakes of Argentina. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 70: 81–88.
- Isles, P.D., Xu, Y., Stockwell, J.D., Schroth, A.W., 2017. Climate-driven changes in energy and mass inputs systematically alter nutrient concentration and stoichiometry in deep and shallow regions of Lake Champlain. *Biogeochemistry* 133: 201–217.
- Ito, Y., & Kazuro, M., 2015. Impacts of regional warming on long-term hypolimnetic anoxia and dissolved oxygen concentration in a deep lake. *Hydrological Processes* 29: 2232–2242.
- James, M.R., Burns, C.W., Forsyth, D.J., 1995. Pelagic ciliated protozoa in two monomictic, southern temperate lakes of contrasting trophic state: seasonal distribution and abundance. *Journal of Plankton Research* 17(7): 1479–1500.

- Jankowski, T., Livingstone, D.M., Buhrer, H., Forster, R., Niederhauser, P., 2006. Consequences of the 2003 European heat wave for lake temperature profiles, thermal stability, and hypolimnetic oxygen depletion: Implications for a warmer world. *Limnology and Oceanography* 51: 815–819. doi:10.4319/lo.2006.51.2.0815
- Jansen, W., Hesslein, R.H., 2004. Potential effects of climate warming on fish habitats in temperate zone lakes with special reference to Lake 239 of the experimental lakes area (ELA), north-western Ontario. *Environmental Biology of Fishes* 70: 1–22.
- Jeong, H.J., Yoo, Y.D., Kim, J.S., Seong, A.S., Kang, N.S., Kim, T.H., 2010. Growth, feeding and ecological roles of the mixotrophic and heterotrophic dinoflagellates in marine planktonic food webs. *Ocean Science Journal* 45: 65–91.
- Jeppesen, E., Søndergaard, M., Jensen, J.P., Havens, K.E., Anneville, O., Carvalho, L., Coveney, M.F., et al., 2005. Lake responses to reduced nutrient loading—an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshwater Biology* 50: 1747–1771.
- Jobbágy, E.G., Paruelo, J.M., León, R.J.C. 1995. Estimación de la precipitación y de su variabilidad interanual a partir de información geográfica en el NW de Patagonia, Argentina. *Ecología Austral* 5: 47–53.
- Joint, I., & Groom, S.B., 2000. Estimation of phytoplankton production from space: current status and future potential of satellite remote sensing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 250(1-2): 233–255.
- Jones, H., 1997. A classification of mixotrophic protists based on their behavior. *Freshwater Biology* 37: 35–43.
- Jones, R.I., 1992. The influence of humic substances on lacustrine planktonic food chains. *Hydrobiologia* 229: 73–91.
- Jovanović, J., Trbojević, I., Simić, G. S., Popović, S., Predojević, D., Blagojević, A., & Karadžić, V., 2017. The effect of meteorological and chemical parameters on summer phytoplankton assemblages in an urban recreational lake. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems* 418: 48.
- Kalbitz, K., Schwesig, D., Rethemeyer, J., Matzner, E., 2005. Stabilization of dissolved organic matter by sorption to the mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37(7): 1319–1331.
- Karlsson, J., Lymer, D., Vrede, K., Jansson, M., 2007. Differences in efficiency of carbon transfer from dissolved organic carbon to two zooplankton groups: an enclosure experiment in an oligotrophic lake. *Aquatic Sciences* 69: 108–114.
- Kasprzak, P., Padisák, J., Koschel, R., Krienitz, L., Gervais, F., 2008. Chlorophyll a concentration across a trophic gradient of lakes: An estimator of phytoplankton biomass? *Limnologia* 38(3-4): 327–338.
- Kassambara, A., Mundt, F., 2020. Factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses. R package version 1.0.7. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>
- Katsiapi, M., Mazaris, A.D., Charalampous, E., Moustaka-Gouni, M., 2012. Watershed land use types as drivers of freshwater phytoplankton structure. *Hydrobiologia* 698: 121–131. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1095-z>.
- Kelleher, J.D., Mac Namee, B., & D'arcy, A., 2020. Fundamentals of machine learning for predictive data analytics: algorithms, worked examples, and case studies. MIT press.
- Kellerman, A.M., Kothawala, D.N., Dittmar, T., Tranvik, L.J., 2015. Persistence of dissolved organic matter in lakes related to its molecular characteristics. *Nature Geoscience* 8: 454–457.
- Kelly, E.N., Schindler, D.W., St. Louis, V.L., Donald, D.B., Vlaclicka, K.E., 2006. Forest fire increases mercury accumulation by fishes via food web restructuring and increased

- mercury inputs. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 103: 19380–19385.
- Kilham, S.E., Theriot, E.C., Fritz, S., 1996. Linking planktonic diatoms and climate change in the large lakes of the Yellowstone ecosystem using resource theory. *Limnology and Oceanography* 41: 1052–1062.
 - Kim C., Nishimura &, Nagata T., 2006. Role of dissolved organic matter in hypolimnetic mineralization of carbon and nitrogen in a large, monomictic lake. *Limnology and oceanography* 51(1): 70–78.
 - Kingston, J.C., 2003. Araphid and Monoraphid Diatoms. In: *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (Wehr, J.D., Sheath, R.G. Eds) 595–636.
 - Kirk, J.T.O., 1981. Monte Carlo study of the nature of the underwater light field in, and the relationships between optical properties of, turbid yellow waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 32: 517–532.
 - Kirk, J.T.O., 1984. Dependence of relationship between inherent and apparent optical properties of water on solar altitude. *Limnology and Oceanography* 29: 350–356.
 - Kirk, J.T.O., 1994. *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems*. Cambridge University Press.
 - Kishino, M., Takahashi, N., Okami, N., Ichimura, S., 1985. Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. *Bulletin of Marine Science* 37: 634–642.
 - Kissman, C.E.H., Williamson, C.E., Rose, K.C., Saros, J.E., 2013. Response of phytoplankton in an alpine lake to inputs of dissolved organic matter through nutrient enrichment and trophic forcing. *Limnology and Oceanography* 58: 867–880.
 - Kling, G.W., Kipphut, G.W., Miller, M.W., O'Brien, W.J., 2000. Integration of lakes and streams in a landscape perspective: The importance of material processing on spatial patterns and temporal coherence. *Freshwater Biology* 43(3): 477–497.
 - Kocielek, J.P., Spaulding, S.A., 2003. Eunotiod and Asymmetrical Naviculoids Diatoms. In: *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (Wehr JD, Sheath RG, Eds.) 665–667.
 - Kocielek, J.P., Spaulding, S.A., 2003. Symmetrical Naviculoid Diatoms. In: *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (Wehr JD, Sheath RG, Eds.), 637–653.
 - Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B., Von Lützow, M., 2008. An integrative approach of organic matter stabilization in temperate soils: Linking chemistry, physics, and biology. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171: 5–13.
 - Köhler, S.J., Kothawala, D., Futter, M.N., Liungman, O., Tranvik, L., 2013. In-lake processes offset increased terrestrial inputs of dissolved organic carbon and color to lakes. *PLoS ONE* 8: e70598. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0070598>.
 - Komárek, J., Komarkova, J., 2003. Filamentous Cyanobacteria. In: *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (Wehr JD, Sheath RG, Eds.) 117–195.
 - Komatsu, T., Fukushima, T., Harasawa, H., 2007. A modeling approach to forecast the effect of long-term climate change on lake water quality. *Ecological Modelling* 209: 351–366.
 - Kothawala, D.N., Stedmon, C.A., Müller, R.A., Weyhenmeyer, G.A., Köhler, S.J., Tranvik, L.J., 2014. Controls of dissolved organic matter quality: evidence from a large-scale boreal lake survey. *Global Change Biology* 20: 1101–1114.
 - Kowalczyk, P., Durako, M.J., Young, H., Kahn, A.E., Cooper, W.J., Gonsior, M., 2009. Characterization of dissolved organic matter fluorescence in the South Atlantic Bight with use of PARAFAC model: Interannual variability. *Marine Chemistry* 113: 182–196.

- Kraemer, B.M., Anneville, O., Chandra, S., Dix, M., Kuusisto, E., et al., 2015. Morphometry and average temperature affect lake stratification responses to climate change. *Geophysical Research Letters* 42: 4981–4988. <https://doi.org/10.1002/2015GL064097>.
- Kratz, T.K., Webster, K.E., Bowser, C.J., Magnuson, J.J., Benson, B.J., 1997. The influence of landscape position on lakes in northern Wisconsin. *Freshwater Biology* 37: 209–217.
- Kruk, C., Huszar, V.L.M., Peeters, E.T.H.M., Bonilla, S., Costa, L.S., Lüring, M., Reynolds, C., Scheffer, M., 2010. A morphological classification capturing functional variation in phytoplankton. *Freshwater Biology* 55: 614–627. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02298.x>
- Kugrens, P., 2003. Cryptomonads. In: *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (Wehr JD, Sheath RG, Eds.) 715–755.
- Kumar, S., & Sekaran, V., 2014. Nutrient cycles in lakes. *International Journal of Lakes and Rivers* 7(1): 11–24.
- Lampert, W., & Sommer, U., 2007. *Limnoecology: the ecology of lakes and streams*. Oxford University Press.
- Laybourn-Parry, J., & Marshall, W.A., 2003. Photosynthesis, mixotrophy and microbial plankton dynamics in two high Arctic lakes during summer. *Polar Biology* 26: 517–524.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F., 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25: 1–18.
- Lee, Z., Carder, K.L., & Arnone, R.A., 2002. Deriving inherent optical properties from water color: a multiband quasi-analytical algorithm for optically deep waters. *Applied Optics* 41(27): 5755–5772.
- Leong, S.C.Y., & Taguchi, S., 2006. Detecting the bloom-forming dinoflagellate *Alexandrium tamarense* using the absorption signature. *Hydrobiologia* 568: 299–308.
- Lerman, A., Imboden, D.M., & Gat, J.R. (Eds.), 1995. *Physics and chemistry of lakes*. Berlin: Springer-Verlag.
- Levasseur, M., Thompson, P.A., Harrison, P.J., 1993. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. *Journal of Phycology* 29: 587–595.
- Levitan, O., Dinamarca, J., Zelzion, E., Lun, D.S., Guerra, L.T., Kim, M.K., et al., 2015. Remodeling of intermediate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under nitrogen stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112: 412–417. doi: 10.1073/pnas.1419818112
- Ling, Z., Sun, D., Wang, S., Qiu, Z., Huan, Y., Mao, Z., & He, Y., 2018. Retrievals of phytoplankton community structures from in situ fluorescence measurements by HS-6P. *Optics Express* 26(23): 30556–30575.
- Litchman, E., & Klausmeier, C.A., 2008. Trait-based community ecology of phytoplankton. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 615–639. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173549>
- Litchman, E., 1998. Population and community responses of phytoplankton to fluctuating light. *Oecologia* 117: 247–257.
- Litchman, E., de Tezanos Pinto, P., Klausmeier, C.A., Thomas, M.K., & Yoshiyama, K., 2010. Linking traits to species diversity and community structure in phytoplankton. *Hydrobiologia* 653: 15–28. <https://doi.org/10.1007/s10750-010-0341-5>
- Litchman, E., Klausmeier, C., Schofield, O., Falkowski, P., 2007. The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters* 10: 1170–1181.

- Lund, J.W.G., Kipling, C., & Le Cren, E.D., 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143–170.
- MacIntyre, S., 1998. Turbulent mixing and resource supply to phytoplankton. En Imberger, J. (Ed.), *Physical processes in lakes and oceans. Coastal and Estuarine Studies* 54. American Geophysical Union, Washington DC: 561–590.
- Mackey, M.D., Mackey, D.J., Higgins, H.W., & Wright, S.W., 1996. CHEMTAX-a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144: 265–283.
- Magnuson, J.J., Benson, B.J., & Kratz, T.K., 1990. Temporal coherence in the limnology of a suite of lakes in Wisconsin, U.S.A. *Freshwater Biology* 23: 145–159.
- Margalef, R., 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta*, 1: 493–509.
- Markert, B., Pedrozo, F., Geller, W., Friese, K., Korhammer, S., Baffico, G., Diaz, M., & Wölfl, S., 1997. A contribution to the study of the heavy-metal and nutritional element status of some lakes in the southern Andes of Patagonia (Argentina). *Science of the Total Environment* 206(1): 1–15.
- Martin, S.L., Soranno, P.A., 2006. Lake landscape position: Relationships to hydrologic connectivity and landscape features. *Limnology and Oceanography* 52: 801–814.
- Martínez-Guijarro, R., Romero, I., Pachés, M., Del Río, J.G., Martí, C.M., Gil, G., ... & Ferrer, J., 2009. Determination of phytoplankton composition using absorption spectra. *Talanta* 78(3): 814–819.
- Masiokas, M.H., Villalba, R., Luckman, B.H., Lascano, M.E., Delgado, S., & Stepanek, P., 2008. 20th-century glacier recession and regional hydroclimatic changes in North-Western Patagonia. *Global and Planetary Change* 60: 85–100.
- McCarthy, M.J., James, R.T., Chen, Y., East, T.L., Gardner, W.S., 2009. Nutrient ratios and phytoplankton community structure in the large, shallow, eutrophic, subtropical Lakes Okeechobee (Florida, USA) and Taihu (China). *Limnology* 10: 215–227.
- McKee, D.C., Doney, S.C., Della Penna, A., Boss, E.S., Gaube, P., & Behrenfeld, M.J., 2023. Biophysical Dynamics at Ocean Fronts Revealed by Bio-Argo Floats. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 128(3): e2022JC019226.
- Mermoz, M., Úbeda, C., Grigera, D., Brion, C., Martín, C., Bianchi, E., & Planas, H., 2009. El Parque Nacional Nahuel Huapi: sus características ecológicas y estado de conservación. *Administración de Parques Nacionales*, 80.
- Meybeck, M., 1983. Carbon, Nitrogen and Phosphorus transport by world rivers. *American Journal of Science* 282: 401–450.
- Mieleitner, J., Borsuk, M., Bürgi, H. R., & Reichert, P., 2008. Identifying functional groups of phytoplankton using data from three lakes of different trophic state. *Aquatic Sciences* 70(1): 30–46.
- Mignot, A., Claustre, H., Uitz, J., Poteau, A., d'Ortenzio, F., & Xing, X., 2014. Understanding the seasonal dynamics of phytoplankton biomass and the deep chlorophyll maximum in oligotrophic environments: A Bio-Argo float investigation. *Global Biogeochemical Cycles* 28(8): 856–876.
- Milano, D., 2003. Biología de *Galaxias platei* (Pisces, Galaxiidae): especializaciones relativas a su distribución. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche.
- Milano, D., Ruzzante, D.E., Cussac, V.E., Macchi, P.J., Ferriz, R.A., Barriga, J.P., Aigo, J.C., Lattuca, M.E., & Walde, S.J., 2006. Latitudinal and ecological correlates of morphological variation in *Galaxias platei* (Pisces, Galaxiidae) in Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society* 87: 69–82.

- Millie, D.F., Schofield, O.M., Kirkpatrick, G.J., Johnsen, G., & Evens, T.J., 2002. Using absorbance and fluorescence spectra to discriminate microalgae. *European Journal of Phycology* 37(3): 313–322.
- Mitchell, B. G., 1990. Algorithms for determining the absorption coefficient for aquatic particulates using the quantitative filter technique. In *Ocean optics X* 1302: 137–148.
- Mitra, A., Flynn, K.J., Tillmann, U., Raven, J.A., Caron, D., Stoecker, D.K., ... & Lundgren, V., 2016. Defining planktonic protist functional groups on mechanisms for energy and nutrient acquisition: incorporation of diverse mixotrophic strategies. *Protist* 167(2): 106–120.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Elser, J.J., Bastidas Navarro, M., Cuassolo, F., Laspoumaderes, C., Souza, M.S., & Villanueva, V.D., 2013. Effect of volcanic eruption on nutrients, light, and phytoplankton in oligotrophic lakes. *Limnology and Oceanography* 58(4): 1165–1175.
- Modenutti, B., Albariño, R., Bastidas Navarro, M., Díaz Villanueva, V., Souza, M.S., Trochine, C., Laspoumaderes, C., Cuassolo, F., Mariluán, G., Buria, L., & Balseiro, E., 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: organic matter, light and nutrient relationships. *Ecología Austral* 20(02): 95–114.
- Modenutti, B., Balseiro, E., Callieri, C., Bertoni, R., 2008. Light versus food supply as factors modulating niche partitioning in two pelagic mixotrophic ciliates. *Limnology and Oceanography* 53: 446–455.
- Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., Queimaliños, C.P., Añón Suárez, D.A., Diéguez, M.C., & Albariño, R.J., 1998. Structure and dynamics of food webs in Andean lakes. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 3: 179–186.
- Modenutti, B.E., Pérez, G.L., Balseiro, E.G., & Queimaliños, C.P., 2000. Relationship between light availability, chlorophyll a and total suspended solid in a glacial lake of South Andes. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 27: 2648–2651.
- Moe, S.J., Hobæk, A., Persson, J., Skjelbred, B., & Løvik, J.E., 2022. Shifted dynamics of plankton communities in a restored lake: exploring the effects of climate change on phenology through four decades. *Climate Research* 86: 125–143.
- Mopper, K., & Kieber, D.J., 2002. Photochemistry and the cycling of carbon, sulphur, nitrogen, and phosphorus. In D.A. Hansell & C.A. Carlson (Eds.), *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter* (pp. 456–507). Academic Press.
- Morabito, G., Oggioni, A., & Austoni, M., 2012. Resource ratio and human impact: how diatom assemblages in Lake Maggiore responded to oligotrophication and climatic variability. In *Phytoplankton responses to human impacts at different scales* (pp. 47–60).
- Morabito, G., Oggioni, A., Caravati, E., & Panzani, P., 2007. Seasonal morphological plasticity of phytoplankton in Lago Maggiore (N. Italy). *Hydrobiologia* 578: 47–57.
- Morris, D.P., Zagarese, H.E., Williamson, C.E., Balseiro, E.G., Hargreaves, B.R., Modenutti, B.E., Moeller, R., & Queimaliños, C., 1995. The attenuation of UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography* 40: 381–1391.
- Moss, B., 2012. Cogs in the endless machine: lakes, climate change and nutrient cycles: a review. *Science of the Total Environment* 434: 130–142.
- Mostofa, K.M.G., Liu, C.Q., Minakata, D., & Wu, F., 2013. Photoinduced and microbial degradation of dissolved organic matter in natural waters. In K.M.G. Mostofa, T. Yoshioka, M.A. Mottaleb, & D. Vione (Eds.), *Photobiogeochemistry of Organic Matter: Principles and Practices in Water Environments* (pp. 273–364).

- Mouillot, D., Spatharis, S., Reizopoulou, S., Laugier, T., Sabetta, L., Basset, A., & Do Chi, T., 2006. Alternatives to taxonomic-based approaches to assess changes in transitional water communities. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 16: 469–482.
- Mur, L.R., & Schreurs, H., 1995. Light as a selective factor in the distribution of phytoplankton species. *Water Science and Technology* 32: 25–34.
- Nair, A., Sathyendranath, S., Platt, T., Morales, J., Stuart, V., Forget, M. H., ... & Bouman, H., 2008. Remote sensing of phytoplankton functional types. *Remote Sensing of Environment* 112(8): 3366–3375.
- Naselli-Flores, L., & Barone, R., 2000. Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis in natural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia* 438: 65–74.
- Naselli-Flores, L., & Barone, R., 2007. Pluriannual morphological variability of phytoplankton in a highly productive Mediterranean reservoir (Lake Arancio, Southwestern Sicily). *Hydrobiologia* 578: 87–95.
- Naselli-Flores, L., & Barone, R., 2011. Fight on plankton! Or, phytoplankton shape and size as adaptive tools to get ahead in the struggle for life. *Cryptogamie, Algologie* 32: 157–204.
- Naselli-Flores, L., Termine, R., & Barone, R., 2016. Phytoplankton colonization patterns. Is species richness depending on distance among freshwaters and on their connectivity? *Hydrobiologia* 764: 103–113.
- Naselli-Flores, L., Zohary, T., & Padisák, J., 2021. Life in suspension and its impact on phytoplankton morphology: an homage to Colin S. Reynolds. *Hydrobiologia* 848(1): 7–30.
- Nazari-Sharabian, M., Ahmad, S., & Karakouzian, M., 2018. Climate change and eutrophication: a short review. *Engineering, Technology and Applied Science Research* 8(6): 3668.
- Nusch, E., 1980. Comparison on different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 14: 14–36.
- Oleksy, I.A., Baron, J.S., Leavitt, P.R., & Spaulding, S.A., 2020. Nutrients and warming interact to force mountain lakes into unprecedented ecological states. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 287: 20200304.
- Oliver, M. J., Schofield, O., Bergmann, T., Glenn, S., Orrico, C., & Moline, M., 2004. Deriving *in situ* phytoplankton absorption for bio-optical productivity models in turbid waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*: 109(C7).
- Olson, R.J., Zettler, E.R., & du Rand, M.D., 1993. Phytoplankton analysis using flow cytometry. In Kemp, P. F., Sherr, B. F., Sherr, E. B., Cole, J. J. (Eds.), *Handbook of methods in aquatic microbial ecology* (pp. 175–186). Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- O'Reilly, C.M., Sharma, S., Gray, D.K., Hampton, S.E., Read, J. S., Rowley, R.J., ... & Zhang, G., 2015. Rapid and highly variable warming of lake surface waters around the globe. *Geophysical Research Letters* 42(24): 1–9.
- Organelli, E., Bricaud, A., Antoine, D., & Uitz, J., 2013. Multivariate approach for the retrieval of phytoplankton size structure from measured light absorption spectra in the Mediterranean Sea (BOUSSOLE site). *Applied Optics* 52(11): 2257–2273.
- Organelli, E., Nuccio, C., Lazzara, L., Uitz, J., Bricaud, A., & Massi, L., 2017. On the discrimination of multiple phytoplankton groups from light absorption spectra of assemblages with mixed taxonomic composition and variable light conditions. *Applied Optics* 56(14): 3952–3968.

- Oubelkheir, K., Claustre, H., Bricaud, A., & Babin, M., 2007. Partitioning total spectral absorption in phytoplankton and colored detrital material contributions. *Limnology and Oceanography: Methods* 5(11): 384–395.
- Özkundakci, D., Gsell, A.S., Hintze, T., Täuscher, H., & Adrian, R., 2016. Winter severity determines functional trait composition of phytoplankton in seasonally ice-covered lakes. *Global Change Biology* 22: 284–298.
- Pace, M.J., & Cole, C.C., 2002. Synchronous variation of dissolved organic carbon and color in lakes. *Limnology and Oceanography* 47(2): 333–342.
- Pace, M.L., Carpenter, S.R., Kitchell, J.F., Hodgson, J.R., Middelburg, J.J., Preston, N.D., Solomon, C.T., & Weidel, B.C., 2007. Does terrestrial organic carbon subsidize the planktonic food web in a clear-water lake? *Limnology and Oceanography* 52: 2177–2189.
- Pace, M.L., Cole, J.J., Carpenter, S.R., Kitchell, J.F., Hodgson, J.R., Van De Bogert, M., Bade, D.L., Kritzberg, E.S., & Bastviken, D., 2004. Whole-lake carbon-13 additions reveal terrestrial support of aquatic food webs. *Nature* 427: 240–243.
- Padisák, J., Crossetti, L. O., & Naselli-Flores, L., 2009. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia* 621: 1–19. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9645-0>.
- Padisák, J., Hajnal, E., Naselli-Flores, L., Dokulil, M.T., Nöges, P., & Zohary, T., 2010. Convergence and divergence in organization of phytoplankton communities under various regimes of physical and biological control. *Hydrobiologia* 639: 205–220.
- Padisák, J., Köhler, J., & Hoeg, S., 1999. Effect of changing flushing rates on development of late summer *Aphanizomenon* and *Microcystis* populations in a shallow lake, Müggelsee, Berlin, Germany. *Theoretical Reservoir Ecology and its Applications*, pp. 411–423.
- Paruelo, J.M., Beltrán, A., Jobbágy, E., Sala, O.E., & Golluscio, R.A., 1998. The climate of Patagonia: general patterns and controls on biotic processes. *Ecología Austral* 8: 85–101.
- Paudel, B., Montagna, P.A., & Adams, L., 2019. The relationship between suspended solids and nutrients with variable hydrologic flow regimes. *Regional Studies in Marine Science* 29: 100657.
- Pedrozo, F., Chillrud, S., Temporetti, P., & Diaz, M., 1993. Chemical composition and nutrient limitation in rivers and lakes of Northern Patagonian Andes (39.5–42°S; 71°W) (Rep. Argentina). *Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 25: 207–214.
- Perakis, S.S., & Hedin, L.O., 2002. Nitrogen loss from unpolluted South American forests mainly via dissolved organic compounds. *Nature* 415(6870): 416–419.
- Pérez, G.L., Queimaliños, C.P., & Modenutti, B.E., 2002. Light climate at the deep chlorophyll maxima in North Patagonian Andean Lakes (Argentina). *Journal of Plankton Research* 24: 591–599.
- Pessacg, N., Flaherty, S., Solman, S., & Pascual, M., 2020. Climate change in northern Patagonia: critical decrease in water resources. *Theoretical and Applied Climatology* 140(3-4): 807–822.
- Peter, H., & Sommaruga, R., 2017. Alpine glacier-fed turbid lakes are discontinuous cold polymictic rather than dimictic. *Inland Waters* 7(1): 45–54.
- Pettersson, K., Brettum, P., Andersen, T., & Kuoppala, M., 2003. Effects of nutrient limitation on phytoplankton in four large lakes in southern Finland. *Freshwater Biology* 48(10): 1651–1661.
- Pham, S.V., Leavitt, P.R., McGowan, S., & Peres-Neto, P., 2008. Spatial variability of climate and land-use effects on lakes of the northern Great Plains. *Limnology and Oceanography* 53: 728–742.

- Piccolroaz, S., Woolway, R.I., & Merchant, C.J., 2020. Global reconstruction of twentieth-century lake surface water temperature reveals different warming trends depending on the climatic zone. *Climate Change* 160(3): 427–442.
- Pichler, M., & Hartig, F., 2023. Machine learning and deep learning—A review for ecologists. *Methods in Ecology and Evolution* 14(4): 994–1016.
- Pielou, E.C., 1969. *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience.
- Pinel-Alloul, B., Giani, A., Taranu, Z. E., Lévesque, D., Marinescu, I., Kufner, D., ... & Robert, M., 2022. Foodweb biodiversity and community structure in urban waterbodies vary with habitat complexity, macrophyte cover, and trophic status. *Hydrobiologia* 849: 3761–3787.
- Plagányi, E.E., 2007. Models for an ecosystem approach to fisheries. FAO Fisheries Technical Paper 477.
- Queimaliños, C.P., Modenutti, B.E., & Balseiro, E.G., 1999. Symbiotic association of the ciliate *Ophrydium naumanni* with *Chlorella* causing a deep chlorophyll *a* in an oligotrophic South Andean Lake. *Journal of Plankton Research* 21: 167–178.
- Queimaliños, C.P., Reissig, M., Diéguez, M.C., Arcagni, M., Ribeiro Guevara, S., Campbell, L., Soto Cárdenas, C., Rapacioli, R., & Arribére, M., 2012. Seasonality of pelagic allochthonous signals in two connected ultraoligotrophic lakes of North Patagonia: interactions with precipitation landscape and hydrogeomorphic lake features. *Science of the Total Environment*, 427-428, 219–228.
- Queimaliños, C., & Diaz, M., 2014. Phytoplankton of Andean Patagonian lakes. *Advances in Limnology* 65: 235–256.
- Queimaliños, C., Reissig, M., Pérez, G.L., Cárdenas, C.S., Gereá, M., García, P.E., García, R.D., & Diéguez, M.C., 2019. Linking landscape heterogeneity with lake dissolved organic matter properties assessed through absorbance and fluorescence spectroscopy: Spatial and seasonal patterns in temperate lakes of Southern Andes (Patagonia, Argentina). *Science of the Total Environment* 686: 223–235.
- Raitos, D.E., Lavender, S.J., Maravelias, C.D., Haralabous, J., Richardson, A.J., & Reid, P.C., 2008. Identifying four phytoplankton functional types from space: An ecological approach. *Limnology and Oceanography* 53(2): 605–613.
- Raitos, D.E., Pradhan, Y., Brewin, R.J., Stenchikov, G., & Hoteit, I., 2013. Remote sensing the phytoplankton seasonal succession of the Red Sea. *Plos One* 8(6): e64909.
- Rapacioli, R.A., 2011. Caracterización hidrológica de la Reserva Natural Urbana Lago Morenito – Laguna Ezquerria. Informe Técnico 1–34.
- Reche, I., Pace, M.L., & Cole, J. J., 1999. Relationship of trophic and chemical conditions to photobleaching of dissolved organic matter in lake ecosystems. *Biogeochemistry* 44: 259–280.
- Reche, I., Pace, M.L., & Cole, J.J., 2000. Modeled effects of dissolved organic carbon and solar spectra on photobleaching in lake ecosystems. *Ecosystems* 3: 419–432.
- Rechencq, M., Sosnovsky, A., Macchi, P.J., Alvear, P.A., & Vigliano, P.H., 2011. Extensive diel fish migrations in a deep ultraoligotrophic lake of Patagonia Argentina. *Hydrobiologia* 658: 147–161.
- Reissig, M., Modenutti, B.E., Balseiro, E.G., & Queimaliños, C.P. (2004). The role of the predaceous copepod *Parabroteas sarsi* in the pelagic food web of a large deep Andean lake. *Hydrobiologia* 524: 67–77.
- Reissig, M., Queimaliños, C.P., Modenutti, B.E., & Balseiro, E.G., 2015. Prey C:P ratio and phosphorus recycling by a planktivorous fish: advantages of fish selection towards pelagic cladocerans. *Ecology of Freshwater Fish* 24: 214–224.

- Reynaud, A., & Lanzaova, D., 2017. A Global Meta-Analysis of the Value of Ecosystem Services Provided by Lakes. *Ecological Economics* 137: 184–194.
- Reynolds, C.S., 1973. The seasonal periodicity of planktonic diatoms in a shallow eutrophic lake. *Freshwater Biology* 3: 89–110.
- Reynolds, C.S., 1976a. Sinking movements of phytoplankton indicated by a simple trapping method. I. A *Fragilaria* population. *British Phycological Journal* 11: 279–291.
- Reynolds, C.S., 1976b. Sinking movements of phytoplankton indicated by a simple trapping method. II. Vertical activity ranges in a stratified lake. *British Phycological Journal* 11: 293–303.
- Reynolds, C.S., 1984. Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function, and environmental variability. *Freshwater Biology* 14(2): 111–142.
- Reynolds, C.S., 1988. Functional morphology and adaptive strategies of freshwater phytoplankton. In C. D. Sandgren (Ed.), *Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton* (pp. 388–433). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Reynolds, C.S., Padisák, J., Sommer, U., 1993. Intermediate disturbance in the ecology of phytoplankton and the maintenance of species-diversity - a synthesis. *Hydrobiologia* 249: 183–188.
- Reynolds, C.S., 1997. *Vegetation Processes in the Pelagic: A Model for Ecosystem Theory*. Ecology Institute.
- Reynolds, C.S., 1998. Plants in motion: physical–biological interactions in the plankton. In Imberger, J. (Ed.), *Physical Processes in Lakes and Oceans*. Coastal and Estuarine Studies 54 (pp. 535–560). American Geophysical Union.
- Reynolds, C.S., 1998. What factors influence the species composition of phytoplankton in lakes of different trophic status? *Hydrobiologia* 369-370: 11–26.
- Reynolds, C.S., 2006. *The Ecology of Phytoplankton*. Cambridge University Press.
- Reynolds, C.S., 2007. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment. *Hydrobiologia* 578: 37–45.
- Reynolds, C.S., Huszar, V., Kruk, C., Naselli-Flores, L., & Melo, S., 2002. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 24(5): 417–428.
- Richardson, K., Beardall, J., Raven, J.A., 1983. Adaptation of unicellular algae to irradiance - an analysis of strategies. *New Phytologist* 93: 157–191.
- Roberts, J.J., Fausch, K.D., Schmidt, T.S., & Walters, D.M., 2017. Thermal regimes of Rocky Mountain lakes warm with climate change. *PLoS One* 12: e0179498.
- Rhodes, J.R. & Jonzén, N., 2011. Monitoring temporal trends in spatially structured populations: how should sampling effort be allocated between space and time? *Ecography* 34: 1040–1048.
- Rodrigo, M.A., Pierson, D.C., Petterson, K., Kaup, E., & Padisák, J., 1998. Sinking and floating rates of natural phytoplankton assemblages in Lake Erken. *Archiv für Hydrobiologie, Special Issues, Advances in Limnology* 51: 143–156.
- Rogora, M., Buzzi, F., Dresti, C., Leoni, B., Lepori, F., Mosello, R., Patelli, M., & Salmaso, N., 2018. Climatic effects on vertical mixing and deep-water oxygen content in the subalpine lakes in Italy. *Hydrobiologia* 824: 33–50.
- Rogora, M., Mosello, R., Arisci, S., 2003. The effect of climate warming on the hydrochemistry of alpine lakes. *Water, Air & Soil Pollution* 148: 347–361.
- Rolim, S.B.A., Veetil, B.K., Vieiro, A.P., Kessler, A.B., & Gonzatti, C., 2023. Remote sensing for mapping algal blooms in freshwater lakes: a review. *Environmental Science and Pollution Research*: 1–15.

- Rossknecht, H., 1977. Autochthonous precipitation of calcite in Lake Constance (Obersee). *Archiv für Hydrobiologie* 81(1): 35–64.
- Roy, S., Llewellyn, C.A., Egeland, E.S., & Johnsen, G. (Eds.), 2011. *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy, and applications in oceanography*. Cambridge University Press.
- Rühland, K., Paterson, A., & Smol, J. P., 2015. Lake diatom responses to warming: reviewing the evidence. *Journal of Paleolimnology* 54: 1–35.
- Ruiz-Verdú, A., Simis, S.G., de Hoyos, C., Gons, H.J., & Peña-Martínez, R., 2008. An evaluation of algorithms for the remote sensing of cyanobacterial biomass. *Remote Sensing of Environment* 112(11): 3996–4008.
- Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., ... & Rios, A.F., 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science* 305: 367–371.
- Salmaso, N. (2005). Effects of climatic fluctuations and vertical mixing on the interannual trophic variability of Lake Garda, Italy. *Limnology and Oceanography* 50: 553–565.
- Salmaso, N., & Padisák, J., 2007. Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia* 578: 97–112.
- Salmaso, N., & Tolotti, M., 2021. Phytoplankton and anthropogenic changes in pelagic environments. *Hydrobiologia* 848(1): 251–284.
- Salmaso, N., 2002. Ecological patterns of phytoplankton assemblages in Lake Garda: seasonal, spatial, and historical features. *Journal of Limnology* 61(1): 95–115.
- Salmaso, N., Morabito, G., Mosello, R., Garibaldi, L., Simona, M., Buzzi, F., & Ruggiu, D., 2003. A synoptic study of phytoplankton in the deep lakes south of the Alps (lakes Garda, Iseo, Como, Lugano, and Maggiore). *Journal of Limnology* 62(2): 207–227.
- Salmaso, N., Naselli-Flores, L., & Padisák, J., 2015. Functional classifications and their application in phytoplankton ecology. *Freshwater Biology* 60: 603–619.
- Sathyendranath, S., Cota, G., Stuart, V., Maass, H., & Platt, T., 2001. Remote sensing of phytoplankton pigments: a comparison of empirical and theoretical approaches. *International Journal of Remote Sensing* 22(2-3): 249–273.
- Saros, J.E., Interlandi, S.J., Doyle, S., Michel, T.J., & Williamson, C.E., 2005. Are the Deep Chlorophyll Maxima in Alpine Lakes Primarily Induced by Nutrient Availability, not UV Avoidance? *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 37(4): 557–563.
- Schallenberg, M., James, M., Hawes, I., & Howard-Williams, C., 1999. External forcing by wind and turbid inflows on a deep glacial lake and implications for primary production. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 33: 311–331.
- Schindler, D.E., & Scheuerell, M.D., 2002. Habitat coupling in lake ecosystems. *Oikos* 98: 177–189.
- Schindler, D.W., 2006. Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography* 51(1, part 2): 356–363.
- Schlüter, L., Lauridsen, T.L., Krogh, G., & Jørgensen, T., 2006. Identification and quantification of phytoplankton groups in lakes using new pigment ratios—a comparison between pigment analysis by HPLC and microscopy. *Freshwater Biology* 51(8): 1474–1485.
- Schmeller, D. S., Loyau, A., Bao, K., Brack, W., Chatzinotas, A., Vleeschouwer, F. D., & Vredenburg, V. T., 2018. People, pollution, and pathogens—Global change impacts in mountain freshwater ecosystems. *Science of the Total Environment* 623: 756–763.
- Schmidt, W., 1928. *Über Temperatur und Stabilitätsverhältnisse von Seen*. *Geographiska Annaler* 10: 145–177.

- Schwaderer, A.S., Yoshiyama, K., Pinto, P.T., Swenson, N.G., Klausmeier, C.A., Litchman, E., 2011. Eco-evolutionary differences in light utilization traits and distributions of freshwater phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 56: 589–598.
- Seitz, C., Scordo, F., Vitale, A.J., Vélez, M.I., & Perillo, G.M., 2020. The effects of extreme drought events on the morphometry of shallow lakes: Implications for sediment resuspension and littoral and pelagic zone distribution. *Journal of South American Earth Sciences* 103: 102743.
- Sevindik, T.O., Celik, K., & Naselli-Flores, L., 2017. Spatial heterogeneity and seasonal succession of phytoplankton functional groups along the vertical gradient in a mesotrophic reservoir. *Annales de Limnologie-International Journal of Limnology* 53: 129–141.
- Shubert, L.E., 2003. Nonmotile coccoid and Colonial Green Algae. In *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification*, Wehr, J.D. y Sheath R.G., Eds, pp. 2053–2309. Elsevier Science, California, USA.
- Sieburth, J.M., Smetacek, V. & Lenz, J., 1978. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography* 23: 1256–1263.
- Simberloff, D., & Dayan, T., 1991. The guild concept and the structure of ecological communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22(1): 115–143.
- Simpson, E.H., 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163: 688.
- Sipler, R.E., & Bronk, D.A., 2015. Dynamics of Dissolved Organic Nitrogen. In Hansell, D.A., & Carlson, C.A. (Eds.), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, pp. 127–232, Burlington, Academic Press.
- Six, C., Thomas, J.C., Garczarek, L., Ostrowski, M., Dufresne, A., Blot, N., Scanlan, D.J. & Partensky, F., 2007. Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study. *Genome biology* 8(12): 1–22.
- Śliwińska-Wilczewska, S., Konarzewska, Z., Wiśniewska, K., & Konik, M., 2020. Photosynthetic pigments changes of three phenotypes of picocyanobacteria *Synechococcus* sp. under different light and temperature conditions. *Cells* 9(9): 2030.
- Small, G.E., Bullerjahn, G.S., Sterner, R.W., Beall, B.F.N., Brovold, S., Finlay, J.C., et al. (2013) Rates and controls of nitrification in a large oligotrophic lake. *Limnology and Oceanography* 58: 276–286.
- Smayda, T.J., 1997. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology and Oceanography* 42(5part2): 1137–1153.
- Smith, J.C., Galy, A., Hovius, N., Tye, A.M., Turowski, J.M., & Schleppe, P., 2013. Runoff-driven export of particulate organic carbon from soil in temperate forested uplands. *Earth and Planetary Science Letters* 365: 198–208.
- Smith, R.E., & Kalff, J., 1982. Size-dependent phosphorus uptake kinetics and cell quota in phytoplankton 1. *Journal of Phycology* 18(2): 275–284.
- Smith, V.H., & Schindler, D.W., 2009. Eutrophication science: where do we go from here? *Trends in Ecology & Evolution* 24(4): 201–207.
- Smith, V.H., 2003. Eutrophication of freshwater and coastal marine ecosystems a global problem. *Environmental Science and Pollution Research* 10: 126–139.
- Sommaruga-Wögrath, S., Koinig, K.A., Schmidt, R., Sommaruga, R., Tessadri, R., & Psenner, R., 1997. Temperature effects on the acidity of remote alpine lakes. *Nature* 387(6628): 64–67.
- Sommer, U., 1981. The role of r- and K-selection in the succession of phytoplankton in Lake Constance. *Acta Oecologia* 2: 327–342.
- Sommer, U., 1985. Seasonal succession of phytoplankton in Lake Constance. *Bioscience* 35: 351–357.

- Sommer, U., 1988. Some size relationships in phytoflagellate motility. *Hydrobiologia* 161: 125–131.
- Sommer, U., 1989. Nutrient status and nutrient competition of phytoplankton in a shallow, hypertrophic lake. *Limnology and Oceanography* 34(7): 1162–1173.
- Sommer, U., Adrian, R., Domis, L.D.S., Elser, J.J., Gaedke, U., Ibelings, B.W., Jeppesen, E., Lurling, M., Molinero, J.C., Mooij, W.M., van Donk, E. & Winder, M., 2012. Beyond the plankton ecology group (PEG) model: mechanisms driving plankton succession. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43: 429–448.
- Soranno, P.A., Carpenter, S.R., & Lathrop, R.C., 1997. Internal phosphorus loading in Lake Mendota: response to external loads and weather. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54(8): 1883–1893.
- Soranno, P.A., Cheruvilil, K.S., Wagner, T., Webster, K.E., & Bremigan, M.T., 2015. Effects of Land Use on Lake Nutrients: The Importance of Scale, Hydrologic Connectivity, and Region. *PlosOne* 10: e0135454.
- Sosnovsky, A., Rechencq, M., Fernández, V., Suarez, M. J., & Cantet, R. J. C., 2020. Hydrological and physico-chemical dynamics in two Andean streams. *Limnetica* 39(1): 17–33.
- Soto Cárdenas, C., Diéguez, M.C., Queimaliños, C., Rizzo, A.P., Fajon, V., Kotnik, J., Horvat, M., & Ribeiro Guevara, S., 2018. Mercury in a stream-lake network (Southern Volcanic Zone, Argentina): partitioning and interaction with dissolved organic matter. *Chemosphere* 197: 262–270.
- Soto Cárdenas, C., Gereá, M., García, P.E., Pérez, G.L., Diéguez, M.C., Rapacioli, R., Reissig, M., Queimaliños, C., 2017. Interplay between climate and hydrogeomorphic features and their effect on the seasonal variation of dissolved organic matter in shallow temperate lakes of the Southern Andes (Patagonia, Argentina): a field study based on optical properties. *Ecohydrology* 10: e1872.
- Soto Cárdenas, C., Diéguez, M.C., Ribeiro Guevara, S., Marvin-DiPasquale, M., & Queimaliños, C.P., 2014. Incorporation of inorganic mercury (Hg^{2+}) in pelagic food webs of ultraoligotrophic and oligotrophic lakes: the role of different plankton size fractions and species assemblages. *Science of the Total Environment* 494–495: 65–73. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.138>
- Soto Cárdenas, E.C., 2015. Caracterización de la materia orgánica disuelta y su relación con el ciclo del mercurio en lagos norpatagónicos. Tesis de Doctorado Universidad Nacional del Comahue.
- Soto, D., 2002. Oligotrophic patterns in southern Chilean lakes: the relevance of nutrients and mixing depth. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 377–393.
- Stabel, H.H., 1986. Calcite precipitation in Lake Constance: Chemical equilibrium, sedimentation, and nucleation by algae 1. *Limnology and Oceanography* 31(5): 1081–1094.
- Stanca, E., Cellamare, M., & Basset, A., 2013. Geometric shape as a trait to study phytoplankton distribution in aquatic ecosystems. *Hydrobiologia* 701: 99–116.
- Stedmon, C.A., & Bro, R., 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods* 6: 572–579.
- Stedmon, C.A., Markager, S., & Bro, R., 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry* 82(3): 239–254.
- Stedmon, C.A., Thomas, D.N., Papadimitriou, S., Granskog, M.A., & Dieckmann, G.S., 2011. Using fluorescence to characterize dissolved organic matter in Antarctic Sea ice brines. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 116(G3): 1–9.

- Sterner, R.W., 1986. Herbivores' direct and indirect effects on algal populations. *Science* 231: 605–607.
- Stevenson, J. 2014. Ecological assessments with algae: a review and synthesis. *Journal of Phycology* 50: 437–461.
- Stoermer, E.F., & Julius, M.L., 2003. Centric Diatoms. En: *Freshwater Algae of North America Ecology and Classification* (Wehr JD & Sheath RG, Eds), pp. 559–594.
- Stomp, M., Huisman, J., Vörös, L., Pick, F.R., Laamanen, M., Haverkamp, T., & Stal, L. J., 2007. Colourful coexistence of red and green picocyanobacteria in lakes and seas. *Ecology Letters*, 10(4), 290–298.
- Strayer, D.L., & Dudgeon, D., 2010. Freshwater biodiversity conservation: recent progress and future challenges. *Journal of the North American Benthological Society* 29(1): 344–358. <https://doi.org/10.1899/08-171.1>
- Stubbins, A., Lapierre, J.F., Berggren, M., Prairie, Y.T., Dittmar, T., & del Giorgio, P.A., 2014. What's in an EEM? Molecular signatures associated with dissolved organic fluorescence in boreal Canada. *Environmental Science & Technology* 48: 10598–10606.
- Stumm, W., Morgan, J.J., & Drever, J.I., 1996. Aquatic chemistry. *Journal of Environmental Quality* 25(5): 1162.
- Sun, J., & Liu, D., 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331–1346.
- Tarbe, A.L., 2010. Les protistes, acteurs-clés du réseau trophique pélagique au Lac Tanganyika. PhD. Thesis, University of Namur, Belgium: 304 pp.
- Taylor, W.D., & Wetzel, R.G., 1988. Phytoplankton community dynamics in Lawrence Lake of south-western Michigan. *Arch. Hydrobiology* 81(4): 491–532.
- Thackeray, S.J., Jones, I.D., & Maberly, S.C., 2008. Long-term change in the phenology of spring phytoplankton: species-specific responses to nutrient enrichment and climatic change. *Journal of Ecology* 96(3): 523–535.
- Tilman, D., 1977. Resource competition between planktonic algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology* 58: 338–348.
- Tilman, D., 1982. Resource competition and community structure. Princeton University Press.
- Tirok, K., & Gaedke, U., 2007. The effect of irradiance, vertical mixing and temperature on spring phytoplankton dynamics under climate change: long-term observations and model analysis. *Oecologia* 150: 625–642.
- Tranvik, L.J., 1992. Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop. *Hydrobiologia* 229: 107–114.
- Tranvik, L.J., Cole, J.J., & Prairie, Y.T., 2018. The study of carbon in inland waters—from isolated ecosystems to players in the global carbon cycle. *Limnology and Oceanography Letters* 3(3): 41–48. <https://doi.org/10.1002/lol2.10068>
- Tranvik, L.J., Downing, J.A., Cotner, J.B., Loiselle, S.A., Striegl, R.G., et al., 2009. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. *Limnology and Oceanography* 54: 2298–2314.
- Trüper, H.G., & Yentsch, C.S., 1967. Use of glass fiber filters for the rapid preparation of in vivo absorption spectra of photosynthetic bacteria. *Journal of Bacteriology* 94: 1255–1256.
- Uitz, J., Claustre, H., Morel, A., & Hooker, S.B., 2006. Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 111(C8).
- Uitz, J., Stramski, D., Reynolds, R.A., & Dubranna, J., 2015. Assessing phytoplankton community composition from hyperspectral measurements of phytoplankton absorption

- coefficient and remote-sensing reflectance in open-ocean environments. *Remote Sensing of Environment* 171: 58-74.
- Utermöhl, H., 1958. Zür Vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik. *Mitt. Internat. Verein. Limnology* 9: 1-38.
 - Van Donk, E., 1997. Biogeography of Freshwater Algae. *Aquatic Ecology* 31(3): 342.
 - Van Gaelen, N., Verheyen, D., Ronchi, B., Struyf, E., Govers, G., Vanderborght, J., et al., 2014. Identifying the transport pathways of dissolved organic carbon in contrasting catchments. *Vadose Zone Journal* 13(7): 1-14.
 - Veblen, T.T., Donoso, C., Kitzberger, T., Rebertus, A.J., 1996. Ecology of Southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* forests. En: Veblen, T.T., Hill, R.S., Read, J. (Eds.), *The Ecology and Biogeography of Nothofagus Forests*. Yale University Press, New Haven.
 - Veech, J.A., & Crist, T.O., 2007. Habitat and climate heterogeneity maintain beta-diversity of birds among landscapes within ecoregions. *Global Ecology and Biogeography* 16(5): 650-656.
 - Venrick, E.L., 1978. How many cells to count? In Sournia, A. (Ed.), *Phytoplankton Manual*. UNESCO, Paris, France.
 - Verburg, P., Hecky, R.E., & Kling, H., 2003. Ecological consequences of a century of warming in Lake Tanganyika. *Science* 301: 505–507.
 - Verpoorter, C., Kutser, T., Seekell, D.A., & Tranvik, L.J., 2014. A global inventory of lakes based on high-resolution satellite imagery. *Geophysical Research Letters* 41(18): 6396–6402. <https://doi.org/10.1002/2014GL060641>
 - Vidussi, F., Claustre, H., Manca, B.B., Luchetta, A., & Marty, J.C., 2001. Phytoplankton pigment distribution in relation to upper thermocline circulation in the eastern Mediterranean Sea during winter. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 106(C9): 19939-19956.
 - Vigliano, P.H., Rechencq, M.M., Fernández, M.V., Lippolt, G.E., & Macchi, P.J., 2018. Fish thermal habitat current use and simulation of thermal habitat availability in lakes of the Argentine Patagonian Andes under climate change scenarios RCP 4.5 and RCP 8.5. *Science of the Total Environment* 636: 688-698.
 - Villafañe, V.E., Buma, A.G.J., Boelen, P. & Helbling, E.W., 2004: Solar UVR-induced DNA damage and inhibition of photosynthesis in phytoplankton from Andean lakes of Argentina. *Archive für Hydrobiologie* 161: 245–266.
 - Vincent, W.F., 2009. Effects of Climate Change on Lakes. In G. E. Likens (Ed.), *Lake Ecosystem Ecology: A Global Perspective* (pp. 55–60). Elsevier.
 - Vivanco, L., & Austin, A.T., 2019. Tree species identity alters forest litter decomposition through long-term plant and soil interactions. *New Phytologist* 223(1): 547–556.
 - Vörös, L., & Padisák, J., 1991. Phytoplankton biomass and chlorophyll-a in some shallow lakes in Central Europe. *Hydrobiologia* 215(2): 111–119.
 - Wagner, C., & Adrian, R., 2009. Cyanobacteria dominance: quantifying the effects of climate change. *Limnology and Oceanography* 54(62): 2460–2468.
 - Wagner, C., & Adrian, R., 2011. Consequences of changes in thermal regime for plankton diversity and trait composition in a polymictic lake: A matter of temporal scale. *Freshwater Biology* 56: 1949–1961.
 - Waiser, M.J., Robarts, R.D., 2004. Photodegradation of DOC in a shallow prairie wetland: evidence from seasonal changes in DOC optical properties and chemical characteristics. *Biogeochemistry* 69: 263–284.
 - Walker, S.A., Amon, R.M., Stedmon, C.A. 2013. Variations in high-latitude riverine fluorescent dissolved organic matter: a comparison of large Arctic rivers. *Journal of Geophysical Research Biogeosciences* 118: 1689–1702.

- Walter, J.A., Coombs, N.J., & Pace, M.L. 2023. Synchronous variation of dissolved organic carbon in Adirondack lakes at multiple timescales. *Limnology and Oceanography Letters* 8: 649–656.
- Wang, J.X., Kong, F.Z., Geng, H.X., Zhang, Q.C., Yuan, Y.Q., & Yu, R.C., 2021. CHEMTAX analysis of phytoplankton assemblages revealed potential indicators for blooms of haptophyte *Phaeocystis globosa*. *Ecological Indicators* 131: 108177.
- Wang, W., Lee, X., Xiao, W., Liu, S., Schultz, N., Wang, Y., Zhang, M., & Zhao, L., 2018. Global lake evaporation accelerated by changes in surface energy allocation in a warmer climate. *Nature Geoscience* 11(6): 410–414.
- Webster, K.E., Soranno, P.A., Cheruvilil, K.S., Bremigan, M.T., Downing, J.A., Vaux, P.D., Asplund, T.R., Bacon, L.C., & Connor, J., 2008. An empirical evaluation of the nutrient–color paradigm for lakes. *Limnology and Oceanography* 53: 1137–1148.
- Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., & Mopper, K., 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science & Technology* 37(20): 4702–4708.
- Weithoff, G., 2003. The concepts of "plant functional types" and "functional diversity" in lake phytoplankton—a new understanding of phytoplankton ecology? *Freshwater Biology* 48: 1669–1675.
- Werdell, P.J., McKinna, L.I., Boss, E., Ackleson, S.G., Craig, S.E., Gregg, W.W., & Zhang, X., 2018. An overview of approaches and challenges for retrieving marine inherent optical properties from ocean color remote sensing. *Progress in Oceanography* 160: 186–212.
- Westerling, A.L., Hidalgo, H.G., Cayan, D.R., & Swetnam, T.W., 2006. Warming and earlier spring increase western US forest wildfire activity. *Science* 313(5789): 940–943.
- Wetzel, R.G., & Likens, G., 2000. *Limnological analyses*. Springer Science & Business Media.
- Wetzel, R.G., 2001. *Limnology: Lake and river ecosystems*. San Diego, CA: Academic Press.
- Weyhenmeyer, G.A., Müller, R.A., Norman, M., & Tranvik, L.J., 2016. Sensitivity of freshwaters to browning in response to future climate change. *Climatic Change* 134: 225–239.
- Wilhelm, S., & Adrian, R., 2008. Impact of summer warming on the thermal characteristics of a polymictic lake and consequences for oxygen, nutrients, and phytoplankton. *Freshwater Biology* 53: 226–237.
- Williamson, C.E., Brentrup, J.A., Zhang, J., Renwick, W.H., Hargreaves, B.R., Knoll, Overholt, E.P., & Rose, K.C., 2014. Lakes as sensors in the landscape: Optical metrics as scalable sentinel responses to climate change. *Limnology and Oceanography* 59: 840–850.
- Williamson, C.E., Dodds, W., Kratz, T.K., & Palmer, M.A., 2008. Lakes and streams as sentinels of environmental change in terrestrial and atmospheric processes. *Frontiers in Ecology and the Environment* 6(5): 247–254.
- Williamson, C.E., Saros, J.E., Vincent, W.F., & Smol, J.P., 2009. Lakes and reservoirs as sentinels, integrators, and regulators of climate change. *Limnology and Oceanography* 54(6part2): 2273–2282.
- Williamson, C.E., Dodds, W., Kratz, T.K., & Palmer, M.A., 2008. Lakes and streams as sentinels of environmental change in terrestrial and atmospheric processes. *Frontiers in Ecology and the Environment* 6(5): 247–254.
- Winder M., & Schindler D.E., 2004. Climate change uncouples trophic interactions in an aquatic ecosystem. *Ecology* 85(8): 2100–2106.

- Winder, M., & Sommer, U., 2012. Phytoplankton response to a changing climate. *Hydrobiologia* 698: 5–16.
- Winder, M., & Hunter, D., 2008. Temporal organization of phytoplankton communities linked to physical forcing. *Oecologia* 156(1): 179–192.
- Winder, M., Reuter, J.E., & Schladow, S.G., 2009. Lake warming favours small-sized planktonic diatom species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276(1656): 427–435.
- Woelfl, S., & Geller, W. 2002. *Chlorella*-bearing ciliates dominate in an oligotrophic North Patagonian Lake (Lake Pirehueico, Chile): abundance, biomass, and symbiotic photosynthesis. *Freshwater Biology* 47(2): 231–242.
- Woolway, R.I., Kraemer, B.M., Lenters, J.D., Merchant, C.J., O'Reilly, C.M., & Sharma, S., 2020. Global lake responses to climate change. *Nature Reviews Earth & Environment* 1(8): 388–403.
- Wu, J., Lee, Z., Xie, Y., Goes, J., Shang, S., Marra, J. F., ... & Huang, B., 2021. Reconciling between optical and biological determinants of the euphotic zone depth. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 126(5): e2020JC016874.
- Xi, H., Hieronymi, M., Röttgers, R., Krasemann, H., & Qiu, Z., 2015. Hyperspectral differentiation of phytoplankton taxonomic groups: a comparison between using remote sensing reflectance and absorption spectra. *Remote Sensing* 7(11): 14781–14805.
- Xia, X., Liu, T., Yang, Z., Zhang, X., & Yu, Z., 2013. Dissolved organic nitrogen transformation in river water: Effects of suspended sediment and organic nitrogen concentration. *Journal of Hydrology* 484: 96–104.
- Xie, L.Q., Xie, P., & Tang, H.J., 2003. Enhancement of dissolved phosphorus release from sediment to lake water by *Microcystis* blooms—an enclosure experiment in a hyper-eutrophic, subtropical Chinese lake. *Environmental Pollution* 122(3): 391–399.
- Ylöstalo, P., Kallio, K., & Seppälä, J., 2014. Absorption properties of in-water constituents and their variation among various lake types in the boreal region. *Remote Sensing of Environment* 148: 190–205.
- Yu, H., Tsuno, H., Hidaka, T., & Jiao, C., 2010. Chemical and thermal stratification in lakes. *Limnology* 11: 251–257.
- Zagarese, H.E., Diaz, M., Pedrozo, F., Ferraro, M., Cravero, W., & Tartarotti, B. Photodegradation of natural organic matter exposed to fluctuating levels of solar radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 61(1-2): 35–45.
- Zanon, J.E., de Carvalho, P., Rodrigues, L.C., & Bini, L.M., 2019. Potential mechanisms related to the spatial synchrony of phytoplankton is dependent on the type of data. *Hydrobiologia* 841: 95–108.
- Zapata, M., Rodríguez, F., & Garrido, J.L, 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195: 29–45.
- Zar, J. H., 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall.
- Zhang, G., Yao, T., Xie, H., Qin, J., Ye, Q., Dai, Y., & Guo, R., 2014. Estimating surface temperature changes of lakes in the Tibetan Plateau using MODIS LST data. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 119(14): 8552–8567.
- Zhang, H., Devred, E., Fujiwara, A., Qiu, Z., & Liu, X., 2018. Estimation of phytoplankton taxonomic groups in the Arctic Ocean using phytoplankton absorption properties: Implication for ocean-color remote sensing. *Optics Express* 26(24): 32280–32301.
- Zhang, Q., Li, Y., Wang, M., Wang, K., Meng, F., Liu, L., Zhao, Y., Ma, L., Zhu, Q., Xu, W., & Zhang, F., 2021. Atmospheric nitrogen deposition: A review of quantification

methods and its spatial pattern derived from the global monitoring networks. *Environmental Safety* 216: 112180.

- Zhang, Y., van Dijk, M. A., Liu, M., Zhu, G., & Qin, B., 2009. The contribution of phytoplankton degradation to chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in eutrophic shallow lakes: Field and experimental evidence. *Water Research* 43: 4685–469
- Zhang, Y., Zhang, E., Yin, Y., van Dijk, M. A., Feng, L., Shi, Z., Liu, M., & Qina, B., 2010. Characteristics and sources of chromophoric dissolved organic matter in lakes of the Yungui Plateau, China, differing in trophic state and altitude. *Limnology and Oceanography* 55(6): 2645–2659.
- Zhu, Q., Shen, F., Shang, P., Pan, Y., & Li, M., 2019. Hyperspectral Remote Sensing of Phytoplankton Species Composition Based on Transfer Learning. *Remote Sensing* 12(3): 364.
- Zhu, W., Wan, L., & Zhao, L., 2010. Effect of nutrient level on phytoplankton community structure in different water bodies. *Journal of Environmental Sciences* 22(1): 32–39.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., & Elphick, C.S., 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution* 1(1): 3–14.