

Informe final publicable de proyecto Microorganismos como indicadores paleolimnológicos de impacto antropogénico en lagos Antárticos

Código de proyecto ANII: FCE_3_2018_1_148239

22/02/2022

BERTOGLIO BAQUÉ, Florencia (Responsable Técnico - Científico)

ANTONIADES, Dermot (Investigador)

PICCINI FERRÍN, Claudia (Investigador)

MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS "CLEMENTE ESTABLE"
(Institución Proponente) \\ FUNDACIÓN DE APOYO AL INSTITUTO CLEMENTE ESTABLE

Resumen del proyecto

La Península Fildes (PF) (Antártida), presenta ocupación humana desde 1968 y es una de las áreas del continente con mayor presión antropogénica, además de encontrarse en una de las regiones con calentamiento global más acelerado. Varios lagos de origen glaciar caracterizan a la PF, muchos de los cuales se encuentran próximos a las bases permanentes y son empleados como suministro de agua. En este proyecto se estudiaron siete lagos de la PF con el objetivo de establecer los cambios a lo largo del último siglo de las comunidades microbianas, relacionándolo con las variaciones en el medio ambiente. Se trabajó con muestras de sedimento y con muestras de agua a partir de las cuales se extrajo el ADN antiguo bacteriano y actual, con el objetivo de evaluar la diversidad bacteriana mediante secuenciación masiva del gen ribosomal 16S. Asimismo, se evaluaron los pigmentos fósiles y en muestras de agua mediante HPLC relacionándolo con la biomasa y la estructura comunitaria del fitoplancton. Mediante fluorescencia de rayos X (XRF) se obtuvo la composición química del sedimento y se caracterizó a la materia orgánica mediante las concentraciones de C, N e isótopos estables del C y N. La estructura comunitaria de los microorganismos del presente difirió según el grado de cobertura de hielo que presentaban los lagos. Además, se observó un incremento en la productividad primaria luego del derretimiento de los lagos y del verano, indicando que el ingreso de materia orgánica, nutrientes y contaminantes determina la estructura comunitaria. Asimismo, el aumento de la biomasa fitoplanctónica observada a partir del siglo XXI puede relacionarse a las variaciones climáticas o a la contaminación local de los últimos años. Por otro lado, el bacterioplancton reveló cambios en su diversidad a partir de 1980, lo que podría relacionarse con la intensificación de las actividades humanas en la región.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias de la Tierra y relacionadas con el Medio Ambiente / Oceanografía, Hidrología, Recursos Acuáticos / Paleolimnología

Palabras clave: Microorganismos / Paleolimnología / Antártida /

Introducción

La Península Antártica (PA), ubicada en la Antártida marítima difiere del resto del continente en muchos aspectos incluyendo el clima, caracterizado por una temperatura media y precipitaciones más altas, los hábitats terrestres y el tipo de ecosistema (Bentley et al., 2009). Pequeñas zonas libres de hielo se distribuyen a lo largo de las franjas costeras de la PA e islas adyacentes, así como en pequeñas zonas que sobresalen del hielo de la meseta de la PA (Oliva et al., 2017). La PA experimentó uno de los calentamientos climáticos más rápidos del planeta durante los siglos XX y XXI, con un aumento de más de cinco veces la media mundial ($0,6 \pm 0,2$ °C durante el siglo XX) (Turner et al., 2014). Este cambio climático en la región se ha producido simultáneamente con la intensificación de las actividades humanas debido al aumento de la investigación científica y a el turismo (Schiffer, 2013). Por ejemplo, la PA posee numerosas estaciones de investigación, incluidas las 12 estaciones construidas en la isla Rey Jorge desde 1968 (COMNAP 2013). Distintos estudios han encontrado concentraciones elevadas de metales pesados debido al petróleo como consecuencia del transporte, así como de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Zhao & Xu, 2000., Smylka et al., 2005; Curtosi et al., 2007; Lim, 2009; Wojtu? et al., 2013; Chu et al., 2019). Las actividades antropogénicas podrían también estar incidiendo en la contaminación del medio ambiente mediante la introducción de microorganismos no autóctonos (Cowan & Tow, 2004).

La PA es una de las zonas del continente con mayor presencia de lagos de origen glaciar (Vincent et al., 2008b). Dichos lagos polares son centinelas del cambio ambiental debido a sus rápidas respuestas ambientales consecuentes de su oligotrofia (Vincent et al., 2008). Por ejemplo, se ha demostrado que los aumentos en la carga de nutrientes debidos a fuentes antropogénicas dan lugar a fuertes aumentos en la biomasa del fitoplancton (Kalff y Welch, 1974; Antoniadis et al., 2011).

Los lagos antárticos tienen redes tróficas simplificadas dominadas por el bucle microbiano incluyendo virus, bacterias, fitoplancton y protozoos generalmente representados por unas pocas especies de zooplancton pigmentado (Pearce, 2003; Lizotte, 2008). Los microorganismos de estos lagos suelen estar regulados por condiciones ambientales extremas que incluyen un suministro de nutrientes extremadamente bajo, periodos prolongados de oscuridad y bajas temperaturas (Kalff y Welch, 1974). En este contexto, las comunidades microbianas son potencialmente sensibles a los impactos externos (Cowan & Tow, 2004), y en el caso de la PA se ven afectadas simultáneamente por la pronunciada variabilidad climática y la creciente variabilidad ambiental debida a las actividades humanas. Sin embargo, se han realizado pocos estudios en los que se hayan explorado las consecuencias de las variaciones ambientales sobre la diversidad bacteriana.

Como consecuencia de la creación del Protocolo al tratado Antártico sobre Protección del Medio Ambiente en 1998, han surgido programas de monitoreo ambiental y obligaciones por parte de los países que llevan a cabo investigaciones en la Antártida. Sin embargo, existe un vacío de información histórica correspondiente al estado "natural" de la región y las condiciones previas a la intensificación de las actividades humanas. Conocer este estado previo constituye un aspecto clave para evaluar el grado de impacto ambiental sobre los ecosistemas.

La Península Fildes, ubicada en Isla Rey Jorge en el archipiélago Shetland del Sur en la PA, presenta ocupación humana permanente desde la construcción de la base científica Rusa Bellingshausen en 1968. Actualmente hay siete bases permanentes, constituyendo una de las zonas más pobladas de la Antártida. Esto lleva asociado la instalación de una gran infraestructura que da soporte a las bases, como por ejemplo la construcción de un aeropuerto, carreteras, tuberías y generadores diésel. La construcción y funcionamiento de estas infraestructuras ha causado una perturbación considerable en el medio ambiente antártico (ATCM 2007), aunque hay un gran desconocimiento sobre el alcance preciso de los efectos a causa de estas perturbaciones.

Los sedimentos de los lagos archivan un registro de los cambios ambientales temporales gracias al depósito cronológico tanto de componentes físicos, químicos y biológicos (Smol, 2008). La paleolimnología reconstruye las condiciones ambientales de un lago y de su cuenca, mediante la datación del sedimento y el análisis de dichos componentes allí presentes (Smol, 2008).

Varios trabajos realizados en lagos de la Península Fildes han demostrado la eficacia de la paleolimnología para la reconstrucción del cambio climático y para la detección de cambios a nivel del paisaje. Estos estudios han evidenciado que la desglaciación en la región comenzó hace 8000 años y que los lagos en estudio se formaron entre hace 6000 y 4000 años. Asimismo, se evidenció variaciones climáticas durante el Holoceno y en particular un incremento en la temperatura durante el Holoceno tardío (Yoon et al., 2006; Lee et al., 2009).

Por lo tanto, estos trabajos se han centrado en cambios ambientales correspondientes a escalas temporales de milenios empleando radiocarbono para la datación (data sedimentos de entre 200 y 40000 años). Sin embargo, para el abordaje de preguntas relacionadas a los cambios ambientales en función de los impactos antropogénicos evidentes en una escala de tiempo menor, es necesario el empleo de isótopos como el ^{210}Pb , que posibilita acceder a escalas de tiempos menores como siglos o décadas (Appleby, 2001). La datación con ^{210}Pb resulta la técnica por excelencia para obtener información proveniente de años recientes de sedimentación (Smol, 2008).

Trabajos llevados a cabo en sistemas acuáticos polares, en su mayoría en el hemisferio norte, han demostrado la eficacia de las técnicas paleolimnológicas para reconstruir cambios ambientales asociados a actividades humanas locales recientes (Michelutti et al., 2007). Estos hallazgos se reflejan en cambios a nivel de las comunidades fitoplanctónicas y en la productividad del sistema (Schindler et al. 1974; Holmgren, 1984), además de detectarse incrementos en las concentraciones de metales derivados de la actividad antropogénica (Outridge et al., 2002; Hermanson & Brozowski, 2005).

Existen diversos indicadores sedimentarios empelados como proxis para reconstruir las condiciones ambientales del pasado, de los cuales en el presente proyecto se empelaron los siguientes:

Materia orgánica: las técnicas empleadas para determinar el origen de la materia orgánica, consisten en determinar el contenido de carbono (C) y nitrógeno (N) orgánico total (Yamamuro & Kayanne, 1995) lo que permite cuantificar la relación C/N y en base a esto inferir su origen (Bertrand et al., 2010).

Isótopos estables de C y N (^{13}C y ^{15}N): permiten reconstruir procesos ambientales por ejemplo a partir de los cambios en los valores de ^{13}C , utilizados para identificar variaciones en la producción primaria del sistema (Finkenbinder et al., 2015). Mientras que variaciones en los valores de ^{15}N infieren las fuentes del nitrógeno suministrado a los lagos (Hu et al., 2001; Meyers & Teranes, 2001).

Composición química del sedimento: la determinación de los elementos químicos del sedimento permite detectar eventos relacionados a ciertas actividades antropogénicas que liberan metales a la atmósfera, por ejemplo el uso de combustibles, que implica la combustión del carbono liberando metales pesados (Pacyna et al., 2010). Conocer los niveles naturales de metales permite cuantificar la contribución antropogénica a la concentración de los metales en los sedimentos, mediante el cálculo de factores de enriquecimiento (Hilton et al., 1985).

Pigmentos fósiles: conservan un registro de los organismos fotosintéticos del pasado en los ecosistemas acuáticos (Leavitt & Hodgson, 2001). Aquellos pigmentos generales como la clorofila a y el β caroteno son buenos indicadores de cambios en la productividad del sistema, mientras que otros carotenoides específicos de grupos de fitoplancton suelen emplearse como biomarcadores reportando cambios en la composición de la comunidad (Leavitt & Hodgson, 2001). Trabajos previos llevados a cabo en lagos Árticos han encontrado cambios en el fitoplancton como resultado de los impactos antropogénicos (Antoniades et al., 2011).

ADN bacteriano antiguo (ADNa): permite detectar cambios sobre las comunidades bacterianas (Pedersen et al., 2015), así como estudiar procesos de extinción y colonización de grupos taxonómicos específicos (Merguey et al., 2007). Una exacta obtención y análisis del ADNa depende de su estabilidad y preservación en el sedimento. Un factor favorable para la preservación del ADNa son las constantes bajas temperaturas características de los lagos polares, pudiéndose preservar por miles de años (Coolen, 2004; Coolen & Gibson, 2009).

Debido a las elevadas tasas de crecimiento y a los reajustes metabólicos que poseen las bacterias, responden rápidamente a los cambios ambientales por ejemplo aquellos relacionados a las actividades antropogénicas (Hartmann et al., 2012), haciéndolas excelentes indicadores. Resulta fundamental emplear métodos moleculares que se basen en la amplificación por PCR (reacción en cadena de la ADN polimerasa), de pequeños fragmentos de ADN (Coolen & Gibson 2009). El gen más ampliamente empleado en ecología microbiana para la detección e identificación de bacterias en muestras ambientales es el que codifica para el ARN ribosomal 16S (ARNr 16S). Este gen posee nueve regiones nucleotídicas hipervariables flanqueadas por regiones conservadas posibilitando su amplificación por PCR empleando primers específicos para dichas secuencias diana (Chakravorty et al., 2007). Debido los óptimos tamaños de las regiones hipervariables (aprox. entre 200 y 700 pares de bases), el acceso a este marcador molecular junto a su posterior secuenciación masiva constituye una herramienta ideal para el análisis del ADNa (Kim et al., 2011). En este sentido, la secuenciación masiva posibilita explorar con gran precisión la riqueza de especies, la abundancia y la composición de las comunidades bacterianas incluyendo el acceso a los miembros de la comunidad presentes en muy bajas abundancias.

El objetivo de este proyecto fue determinar la diversidad de microorganismos del presente y del pasado en siete lagos de la Península Fildes: cinco cercanos a las bases de investigación y dos más alejados. Asimismo, dilucidar el grado de degradación de los lagos en estudio a causa de los efectos antropogénicos.

Se espera reconstruir a las comunidades bacterianas y del fitoplancton de los lagos en estudio, antes y durante la presencia humana, así como identificar poblaciones de microorganismos diferencialmente representadas antes y después de la intensificación de las actividades humanas.

Las muestras del pasado correspondientes tanto a períodos previos como posteriores al establecimiento de las bases científicas fueron obtenidas en un primer muestreo mediante la toma de testigos de sedimento de los siete lagos en estudio. A partir de los testigos se obtuvo los siguientes datos: modelos de edad mediante la datación del sedimento con ^{210}Pb , composición química mediante fluorescencia de rayos X (XRF), concentración de C y N, ^{13}C y ^{15}N , diversidad y biomasa del fitoplancton mediante análisis de pigmentos fósiles por HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia) y diversidad bacteriana mediante amplificación del gen ribosomal 16S. El análisis de los pigmentos fósiles se llevó a cabo con el objetivo de determinar posibles cambios en los estados tróficos de los lagos de la península Fildes durante el siglo pasado, además de explorar los cambios por parte de las comunidades fitoplanctónicas y como dichos cambios se relacionan con la intensificación de las actividades humanas en la región. En tanto que el análisis del ADNa se empleó para evidenciar cambios en la composición de la comunidad bacteriana durante el último siglo, así como bacterias bioindicadoras de contaminación.

Asimismo, de manera de cubrir dos estaciones (previo y posterior al verano) e incluir las variabilidades estacionales de las comunidades del presente, se realizaron dos muestreos en el cual se tomaron muestras de agua superficial de los lagos. Cabe destacar que la época permitida para ingresar a la Antártida es durante el período primavera- verano. Dichas muestras de agua fueron procesadas para analizar los pigmentos y extraer el ADN bacteriano al igual que para las muestras de sedimento, pero con el objetivo de conocer la diversidad microbiana del presente.

Este proyecto constituye un importante avance en el estudio de la calidad ambiental de la península Fildes, lo que ayudará a comprender como los cambios ambientales consecuentes de las actividades humanas han afectado localmente al paisaje y como este podría responder frente a futuros cambios. Además, dado que los lagos en estudio son un reservorio de agua para las bases de la región, conocer cómo responden a los impactos antropogénicos y a los procesos naturales a lo largo del tiempo, posibilita evaluar su sustentabilidad como servicio a largo plazo.

Metodología/diseño del estudio

El sistema de estudio está comprendido por siete lagos de la Península Fildes: cinco de ellos son o han sido utilizados como suministro de agua para las diferentes bases científicas: Lago Uruguay (UY, Base Uruguaya Artigas), Lago Kitiash (KIT, Base Chilena Comandante Frei y Base Rusa Bellingshausen), Laguna las Estrellas (LE, Base Chilena Escudero), Lago Xihu (XIH, Base China Gran Muralla) y Lago Hotel (HOT, suministraba agua al aeropuerto). Se incluirán también dos lagos distantes a las bases (aprox. 3 km) que no son empleados como suministro de agua para las bases: Lago Mondsee (MON) y Lago Jurásico (JUR).

Obtención de testigos de sedimento

Los testigos de sedimento se obtuvieron durante noviembre y diciembre de 2016 mediante un corer de percusión perforando previamente la cubierta de hielo con un taladro manual.

Luego de la toma de los testigos, la superficie del sedimento de cada testigo se estabilizó con Zorbitrol para facilitar el transporte (Tomkins et al., 2008). Para la datación del sedimento se generaron sub-muestras a finos intervalos (2mm) con el fin de asegurar una alta resolución temporal en un sistema con extremadamente bajas tasas de sedimentación. Asimismo, se seccionaron sub-muestras a las mismas alturas del testigo para los restantes marcadores sedimentarios que se analizaron. Luego de tener la datación de cada profundidad de sedimento se seleccionaron las sub-muestras de interés, de manera de cubrir un lapso adecuado para la evaluación de los cambios en las comunidades microbianas, mediante el análisis de pigmentos fósiles y el análisis de la diversidad bacteriana a partir del ADN.

Obtención de muestras de agua

Las muestras de agua para las extracciones de ADN y pigmentos se recogieron de la superficie en el sitio más profundo de cada lago. Se cubrieron dos periodos de muestreo: en la primavera austral de 2017 (del 23 de noviembre al 17 de diciembre), cuando todos los lagos estaban cubiertos de hielo (cubierta de hielo comprendida entre 0.80 – 1.60 m), y en el otoño de 2018 (del 17 al 23 de abril) después del verano austral, cuando los lagos estaban libres de hielo o tenían una capa de hielo de hasta 0.55 m de espesor. Cuando los lagos estaban cubiertos de hielo se perforaron con un taladro manual para tomar las muestras de agua inmediatamente por debajo de la capa de hielo.

La temperatura, el pH, la conductividad específica y el oxígeno disuelto se midieron con una sonda YSI QS. Las muestras de agua se tomaron con un muestreador Kemmerer de 6.2 L, se transfirieron a recipientes de plástico lavados con ácido y se transportaron en oscuridad al laboratorio de la Base Artigas. En el laboratorio la fracción de fitoplancton se capturó filtrando entre 215 y 1000 ml de agua por lago a través de filtros de microfibras de vidrio GF/F con un tamaño de poro nominal de 0,7 µm, por duplicado o triplicado dependiendo del volumen filtrado. Se filtraron entre 250 y 1000 ml de agua (por duplicado o triplicado) a través de filtros de celulosa de 0,45 µm para capturar la fracción bacteriana. Los filtros se almacenaron congelados y en la oscuridad hasta su análisis. El tamaño de la muestra en cada caso representó el volumen máximo de agua que podía pasar por el filtro hasta su obstrucción.

Análisis del fitoplancton

Los pigmentos sedimentarios y los de las muestras de agua se determinaron mediante HPLC la cual permite separar y cuantificación individualmente marcadores como la clorofila y los carotenoides a partir de muestras complejas (Jeffrey et al., 1997). Los pigmentos fueron extraídos a partir de los filtros de microfibras de vidrio obtenidos durante los muestreos y a partir de 0.5 gr de muestras de sedimento. Brevemente, los filtros fueron sonicados en metanol al 95% mientras que el sedimento previamente liofilizado se sonicó en acetona al 90 %. Los extractos resultantes de los filtros fueron luego incubados bajo gas argón en baño de hielo durante 30 min, mientras que los del sedimento se incubaron overnight a -20 °C. A continuación, los extractos se lavaron por centrifugación y se filtraron en viales a través de filtros de PTFE de 0.2 µm y se colocaron en viales de HPLC bajo gas argón. Las muestras se inyectaron en un HPLC Thermo Fisher Accela 600 equipado con un automuestreador, una columna Hypersil Gold C8 (de 3 m de tamaño de poro), una matriz de fotodiodos (PDA) y un detector de fluorescencia, utilizando el protocolo de disolventes en fase inversa de Zapata et al. (2000). Los picos del HPLC se detectaron mediante espectroscopia de matriz de diodos (350-750 nm) ajustada a una anchura de hendidura de 1 nm, y los cromatogramas de absorbancia se obtuvieron a 450 nm. Las clorofilas también se detectaron por fluorescencia (excitación, 440 nm; emisión, 650 nm). Los pigmentos se identificaron y cuantificaron a partir de los tiempos

de retención y de los cromatogramas de absorbancia utilizando estándares de referencia de Sigma Inc. (St. Louis, MO, EE.UU.) y DHI Water & Environment (Hørsholm, Dinamarca); las concentraciones de carotenoides no identificados se calcularon utilizando el coeficiente de calibración del β -caroteno.

Finalmente, la concentración de pigmentos sedimentarios se corrigió en base al contenido de carbono orgánico total, evitando posibles errores en la estimación de la concentración de pigmentos a causa de las variaciones en las tasas de sedimentación inorgánicas (Leavitt & Hodgson 2001). La materia orgánica del sedimento se determinó con un analizador elemental para determinar el contenido de carbono y nitrógeno total.

Análisis del bacterioplancton

La extracción del ADN se llevó a cabo mediante un protocolo de extracción modificado por Martínez de la Escalera et al., (2014) empleando un homogeneizador FastPrep. Brevemente, 1 gr de sedimento y los filtros de 0.45 μm de las muestras de agua fueron homogeneizados con un buffer de extracción de ADN y con perlas de cerámica para la disrupción física. Luego de su homogeneización, se realizaron sucesivos lavados por centrifugación con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) y una fase final de precipitación del ADN con isopropanol a temperatura ambiente durante 24 hrs. Finalmente, el precipitado se lavó por centrifugación con etanol frío, se secó y se resuspendió en agua overnight a 4 °C. La concentración y la pureza del ADN se determinaron espectrofotométricamente a 260 y 280 nm, y su calidad se comprobó mediante la amplificación de una región variable (V4) del gen ribosomal 16S. Los productos de la PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% en tampón TBE 0,5X. Las muestras de ADN se enviaron a un centro de secuenciación masiva para la secuenciación por pares illumina MiSeq de la región V4, utilizando los primers 515F y 806R.

Análisis bioinformático

Una vez obtenida la información de la secuenciación en formato FASTA, se efectuó el análisis informático que permitió identificar y cuantificar la abundancia relativa de los taxones microbianos presentes en las muestras. Esto se efectuó mediante la creación de ASVs (variantes de la secuencia del amplicón), procesando los amplicones en R con DADA2 (Callahan et al., 2016) siguiendo una versión modificada del flujo de trabajo de DADA2 Bioconductor (Callahan et al., 2017). Brevemente, las lecturas fueron filtradas y recortadas por la función filterAndTrim basada en la puntuación de calidad que estima la probabilidad de error de la secuencia de ADN. Se eliminaron las lecturas con un error máximo esperado (maxEE) superior a 2 y basándose en los perfiles de calidad, las lecturas se truncaron en 200 y 150 pb para las lecturas forward y reverse respectivamente. Las variaciones de las secuencias se dedujeron con las funciones learnerrors y dada. Se eliminaron las secuencias quiméricas y se asignó la taxonomía de reino a género con assignTaxonomy, basándose en la base de datos SILVA (v138). Se eliminaron las secuencias ASVs asignadas como Archaea, Chloroplasts y Mitochondria.

Análisis estadísticos

Se estimó la diversidad alfa y beta en ambas comunidades microbianas evaluadas (fitoplancton y bacterioplancton). Para esto, se emplearon los índices de diversidad alfa Shannon, Simpson, riqueza y equitatividad, así como las curvas de rarefacción para los datos de bacterioplancton. La diversidad beta se estimó mediante análisis de redundancia basado en matrices de disimilitud Bray Curtis (db-RDA), relacionando la diversidad beta con las diferentes variables ambientales y geoquímicas obtenidas. Asimismo, la diversidad beta se midió mediante el índice LCBBD (local contribution to beta diversity) (Dray et al., 2018), que permite detectar las muestras con mayor contribución a la varianza total de los datos.

Finalmente, se empleó el método IndVal para identificar especies de bacterias bioindicadoras (Dufrêne & Legendre, 1997).

Resultados, análisis y discusión

En base a los resultados de concentración de Chl a, los lagos en estudio fueron ultra-oligotróficos indicando una baja biomasa del fitoplancton. En promedio, los valores de chl a en todos los lagos fueron de 0.42 \pm 0.34 $\mu\text{g L}^{-1}$ en primavera y de 0.85 \pm 0.24 $\mu\text{g L}^{-1}$ en otoño, sin considerar los valores extremos encontrados en HOT tanto en primavera como en otoño (0.11 y 12.76 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente). MON fue el único lago que no mostró diferencias entre estaciones.

Los pigmentos de los grupos de fitoplancton Chlorophyceae, Prasinophyceae y Euglenophyta dominaron en ambas estaciones y en la mayoría de los lagos, con proporciones entre el 41 y el 87 % sobre el total de los grupos. Los pigmentos Chl b y luteína, principalmente derivados de Chlorophyceae, fueron los pigmentos dominantes y fueron más abundantes en otoño en relación a primavera, mientras que en primavera hubo un aumento en la proporción de los otros pigmentos.

La composición de la comunidad del fitoplancton se vio estructurada por las variables conductividad específica, temperatura y el grosor de la cubierta de hielo presente en los lagos. La conductividad específica fue la variable más fuertemente relacionada con el primer eje db-RDA, controlada en gran medida por la influencia del HOT en otoño. La temperatura y el grosor del hielo tuvieron la mayor influencia en la dispersión de los sitios a lo largo del segundo eje del db-RDA, generando dos grupos de muestras: uno con todos los lagos en otoño y MON en primavera, y otro que incluyó los otros cuatro lagos en primavera.

La diversidad beta espacial para el fitoplancton varió poco entre ambas estaciones, con un valor más alto en primavera cuando todos los lagos estaban cubiertos de hielo (0.21), disminuyendo en otoño (0.10). En primavera, LE tuvo un LCBD significativamente mayor que los otros lagos para esta estación ($p = 0.01$). Luego, JUR en primavera y HOT en otoño tuvieron índices de LCBD altos, pero no significativos ($p = 0.176$ y 0.08 , respectivamente).

Diversidad del bacterioplancton

Se obtuvo un total de 672.606 reads representando 3349 ASVs. Las curvas de rarefacción basadas en ASVs observadas (riqueza) alcanzaron mesetas, indicando que la profundidad de secuenciación fue suficiente para capturar la diversidad. La diversidad alfa del bacterioplancton fue mayor en primavera (cuando todos los lagos están cubiertos de hielo) que en otoño. La diversidad de Shannon y la equitatividad fueron significativamente más altas en primavera que en otoño ($p = 0.008$ y 0.047 , respectivamente), mientras que las diferencias entre estaciones en la riqueza no fueron significativas ($p = 0.2$) y fueron marginalmente significativas ($p = 0.06$) para la diversidad de Simpson.

Las variables conductividad específica y grosor de la cubierta de hielo estructuraron significativamente a la comunidad del bacterioplancton evidenciándose en el modelo db-RDA. En cuanto a la diversidad del bacterioplancton, las muestras se separaron según la estación a lo largo del primer eje, pero con una gran dispersión para la primavera a lo largo del segundo eje. El primer eje db-RDA se relacionó con el espesor del hielo, mientras que el segundo eje con la conductividad específica y reflejó en gran medida los valores más altos de HOT.

La diversidad beta total del bacterioplancton fue mayor que la observada para el fitoplancton, siendo mayor en primavera que en otoño (0.54 y 0.37, respectivamente). Las mayores contribuciones a esta diversidad beta fueron dadas por HOT y LE que mostraron una LCBD significativamente mayor en primavera ($p = 0.007$). HOT también tuvo una LCBD significativamente mayor en otoño ($p = 0.007$).

Debido a que la ordenación inicial de la diversidad del bacterioplancton mediante el análisis db-RDA indicó que las principales similitudes fueron entre estaciones y no entre sitios individuales de diferentes estaciones, los sitios se asignaron a dos grupos basados en la estación para el análisis de IndVal. Estos resultados de IndVal incluyeron 42 ASVs indicadores en primavera, con dominancia de las clases Gammaproteobacteria (14 ASVs), Alphaproteobacteria (7 ASVs) (ambos del phylum Proteobacteria) y Bacteroidia (9 ASVs) (phylum Bacteroidota). Las Gammaproteobacteria fueron del orden Burkholderiales, pertenecientes al género *Rhodoferrax*, *Aquaspirillum arcticum* y *Polaromonas*. La mayoría de los representantes de la clase Bacteroidia pertenecieron al orden Flavobacteriales de los géneros *Flavobacterium*, luego del orden Chitinophagales y del orden Cytophagales (género *Algoriphagus*). Finalmente, los miembros de la clase Alphaproteobacteria fueron los más diversos, incluyendo miembros de los órdenes Rhodobacterales (género *Pseudorhodobacter*), Sphingomonadales (género *Polymorphobacter*), Reyranelles (género *Reyranelia*) y Acetobacterales (género *Rhodovastum*).

Para el otoño, se identificaron 17 ASVs indicadores, representados por las clases Bacteroidia (8 ASVs), Verrucomicrobiae (5 ASVs) y Actinobacteria (4 ASVs) (del phylum Bacteroidota, Verrucomicrobiota y Actinobacteriota respectivamente). Aunque la clase Bacteroidia también representó especies indicadoras de primavera, los miembros de esta clase en otoño correspondieron a los órdenes Cytophagales (género *Pseudarcicella*), Chitinophagales (género *Sediminibacterium*) y Sphingobacteriales. Los indicadores de la clase Actinobacteria fueron de los órdenes Micrococcales y Frankiales. Finalmente, la mayoría de los taxones indicadores de otoño de la clase Verrucomicrobiae no fueron asignados a ningún orden.

Si bien la composición del bacterioplancton se estructuró principalmente entre estaciones, hubo lagos que se destacaron por el predominio de ciertos grupos, como se observó en HOT y LE. Por ejemplo, las bacterias oxidantes de metano (género

Methylobacter de la familia Methylomonadaceae) y las bacterias del azufre (reductoras de sulfato: familias Geobacteraceae, Desulfurivibrionaceae y Desulfocapsaceae; oxidantes del azufre: familias Rhodobacteraceae, Rhodocyclaceae y Sulfurimonadaceae), dominaron en HOT en primavera. Asimismo, la mayor variación observada en LE en primavera, se debió a la dominancia de algunas familias de bacterias, por ejemplo, Acidobacteriaceae, Blastocatellaceae, Chthoniobacteraceae, Frankiaceae y Xanthobacteraceae.

Los resultados aquí obtenidos tanto para el fitoplancton como para el bacterioplancton de las comunidades del presente indican que el derretimiento de la cubierta del hielo durante el verano en los lagos de la Península Fildes estructura notoriamente su diversidad en términos de riqueza, equitatividad y composición de sus comunidades bacterianas.

Asimismo, ciertos lagos se destacaron por presentar diferencias en relación con lo observado en la mayoría de los lagos. Por ejemplo, la comunidad microbiana de HOT difirió respecto a los demás lagos, la conductividad mostró un efecto significativo sobre su comunidad microbiana y la concentración de chl a en otoño fue extremadamente elevada en comparación con el resto. Existe previa evidencia de contaminación en dicho lago debido a la alta concentración de metales pesados (Peter et al., 2013). Se sabe que el transporte es una de las actividades que más altera al medio ambiente en la Península Fildes (Peter et al., 2013), y algunos contaminantes son comunes en la gasolina. Así, la proximidad del HOT al aeropuerto podría implicar la presencia de contaminantes derivados del petróleo.

Resultados de muestras de sedimento

Al igual que en las muestras de agua, los pigmentos fotosintéticos dominantes en las muestras del pasado pertenecieron al grupo Chlorophyceae. Por otro lado, las distintas comunidades del fitoplancton presentaron fluctuaciones a lo largo del tiempo siguiendo patrones diferentes en algunos lagos. En los lagos HOT, LE y UY se observó un incremento en todos los pigmentos en las muestras más modernas (aprox. año 2000), indicando un incremento en la biomasa total del fitoplancton. Luego, el lago MON presentó un incremento en la biomasa fitoplanctónica a partir de 1970 que luego decae en el 2000 y vuelve a incrementar en el 2015, XIH presentó sus máximos valores entre los años 1980 y 2011, y KIT presentó un aumento en la biomasa a partir de 1990 que luego decae en el 2000 y vuelve a aumentar en la muestra más actual (año 2014). Finalmente, los pigmentos en JUR se encontraron por debajo del límite de detección por lo que no se cuentan con resultados para dicho lago.

Los resultados de la diversidad del bacterioplancton del pasado son preliminares ya que se están analizando actualmente. Brevemente, se observó que la composición de la comunidad bacteriana varió en todos los lagos aprox. en el año 1980. Luego se observaron diferencias puntuales para cada lago, por ejemplo, en MON un cambio significativo en la composición de la comunidad en el año 2014, así como un aumento en la riqueza y en la equitatividad. Por otro lado, en todos los lagos a excepción de UY se observó un incremento en la riqueza aproximadamente a partir de 1980, en tanto que en UY se aprecia un incremento, pero a partir de 1990. Finalmente, la riqueza decae en las muestras más modernas (aprox. año 2000), en todos los lagos menos en KIT que disminuye en 1995 y luego vuelve a incrementar en la muestra más moderna correspondiente al año 2014.

Los resultados geoquímicos indican un incremento en la concentración de ciertos metales (Cu, Zn) en años recientes para algunos de los lagos. Esto podría relacionarse con un aumento en las actividades humanas dado que dichos metales están presentes en la gasolina. Un resultado que apoya esta conclusión fue el hallazgo en LE de ciertas especies de diatomeas tolerantes a la contaminación por metales (datos otorgados por Samuel Yergeau).

Conclusiones y recomendaciones

El aumento de la concentración de clorofila en el periodo post-verano, podría confirmar un aumento de nutrientes debido a la escorrentía durante el verano por la pérdida de la cubierta de hielo, lo que resulta en un aumento de la biomasa como consecuencia de un efecto estimulante en la comunidad del fitoplancton. Un aumento en la productividad en la columna de agua de los lagos durante la transición a los periodos libres de hielo debido a la alta disponibilidad de luz y flujos de nutrientes alóctonos, ha sido demostrado previamente en lagos de la Península Byers (Antártida) (López-Bueno et al., 2009; Rochera et al., 2010). El hecho de que tanto la clorofila como la comunidad fitoplanctónica de MON no varíen con las estaciones del año como en el resto de los lagos, podría implicar que este lago no recibe el mismo aporte de nutrientes durante el verano que los otros lagos. Debido a que este lago es uno de los más alejados de las estaciones, los nutrientes que se depositan en las cuencas lacustres pueden estar asociados a las actividades humanas en las estaciones.

Si bien la línea de algas verdes (Chlorophyceae, Prasinophyceae y Euglenophyta) y en particular el grupo Chlorophyceae dominó en ambas estaciones, se observó un aumento relativo de este grupo en el otoño, luego del deshielo durante el verano. Estudios anteriores en lagos antárticos relacionan la dominancia de Chlorophyceae con sitios impactados por nutrientes (Hawes 1990; Mataloni et al. 1998; Izaguirre et al. 2012; Allende y Mataloni 2013), por ejemplo, en verano cuando los lagos están libres de hielo (Izaguirre et al., 1998, Vinocur y Unrein, 2000). Así, nuestros resultados apoyan la hipótesis de un aumento de nutrientes durante el verano.

La disminución de la diversidad del bacterioplancton en otoño puede explicarse por un enriquecimiento de nutrientes debido al aumento de la escorrentía durante el verano, cuando los lagos estaban libres de hielo. Una menor riqueza del bacterioplancton debido al enriquecimiento con nutrientes se ha observado previamente en otros lagos de la PA, como consecuencia de la presencia de fauna marina (Pearce et al., 2005; Villaescusa & Casamayor, 2010). Además, un estudio anterior en uno de los lagos aquí estudiados (UY), que empleó un enfoque paleolimnológico y el mismo método molecular para la diversidad bacteriana al nuestro, encontró una relación entre la pérdida de diversidad y de riqueza bacteriana con el aumento de la sedimentación (García-Rodríguez et al., 2021). Esto también se relacionó con un evento de eutrofización, producto de la retracción del glaciar Collins circundante como consecuencia del calentamiento global principalmente desde 1984 (García-Rodríguez et al., 2021).

La identificación de especies indicadoras de bacterioplancton para cada estación mediante el enfoque IndVal sugiere que cada estación alberga una población microbiana única debido a nichos confinados bajo presiones de selección. Por otro lado, los grupos de bacterias indicadoras de primavera se relacionan con condiciones de oligotrofia, en tanto que las especies indicadoras de otoño son grupos previamente aisladas del suelo. Esto último implica que su presencia en lagos se atribuye principalmente a la escorrentía y a la deposición eólica (Beall et al., 2016). Finalmente, el grupo Verrucomicrobia indicador de la estación otoño y también importante representante de las comunidades del suelo (Bergmann et al., 2011), se encuentra asimismo presente en ambientes acuáticos donde metaboliza diversos polisacáridos (Martínez-García et al., 2012). La taxonomía no asignada a la mayoría de los miembros de dicho grupo sugiere taxones aún no descritos que podrían implicar grupos bacterianos con nuevas adaptaciones tal vez relacionadas con la hidrólisis de compuestos que ingresan a los lagos.

La elevada diversidad microbiana y sus respuestas a los aumentos en los aportes de nutrientes, permite que los ecosistemas acuáticos y sus comunidades microbianas sean centinelas del cambio ambiental en esta zona de estudio destacada por un rápido calentamiento.

Los resultados obtenidos aquí para las muestras de agua en un periodo estacional sientan las bases para entender las consecuencias futuras en un contexto de aceleración del deshielo y retroceso de los glaciares ante el actual calentamiento global. Una reducción en la diversidad microbiana implicaría cambios en las funciones del ecosistema. Además, el aumento de la escorrentía debido a la aceleración del deshielo, junto con la presencia de contaminantes por el aumento de las actividades humanas en la zona, generará más cambios que aún no podemos predecir.

Los presentes resultados de las muestras del presente (muestras de agua) serán sometidas en breve a una revista científica arbitrada, mientras que los datos del pasado (muestras de sedimento) están siendo analizados para someterlos a dos posibles publicaciones científicas.

Referencias bibliográficas

Allende L, Mataloni G (2013) Short-term analysis of the phytoplankton structure and dynamics in two ponds with distinct trophic states from Cierva Point (maritime Antarctica). *Polar Biol* 36:629–644

Antoniades, D., Michelutti, N., Quinlan, R., Blais, J. M., Bonilla, S., Douglas, M. S. V., ... Vincent, W. F. (2011). Cultural eutrophication, anoxia, and ecosystem recovery in Meretta Lake, High Arctic Canada. *Limnology and Oceanography*, 56(2), 639–650. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.2.0639>

Appleby PG. 2001. Chronostratigraphic techniques in recent sediments, p. 171-203. In Last WM & Smol JP (eds). *Tracking environmental change using lake sediments. Volume 1: Basin analysis, coring, and chronological techniques*. Kluwer.

ATCM (Antarctic Treaty Consultative Meeting). 2007. *Implementing the Madrid Protocol: A case study of Fildes Peninsula, King George Island*.

Beall, B. F. N., Twiss, M. R., Smith, D. E., Oyserman, B. O., Rozmarynowycz, M. J., Binding, C. E., ... McKay, R. M. L. (2016). Ice cover extent drives phytoplankton and bacterial community structure in a large north-temperate lake: Implications for a warming climate: Effect of ice cover on microbial community structure. *Environmental Microbiology*, 18(6), 1704–1719. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12819>

Bentley, M. J., Hodgson, D. A., Smith, J. A., Cofaigh, C. Ó., Domack, E. W., Larter, R. D., ... Evans, J. (2009). Mechanisms of Holocene palaeoenvironmental change in the Antarctic Peninsula region. *The Holocene*, 19(1), 51–69. <https://doi.org/10.1177/0959683608096603>

Bergmann, G. T., Bates, S. T., Eilers, K. G., Lauber, C. L., Caporaso, J. G., Walters, W. A., ... Fierer, N. (2011). The under-recognized dominance of Verrucomicrobia in soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(7), 1450–1455. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.03.012>

Bertrand S, Sterken M, Vargas-Ramirez L, De Batist M, Vyverman W, Lepoint G & Fagel N. 2010. Bulk organic geochemistry of sediments from Puyehue Lake and its watershed (Chile, 40°S): Implications for paleoenvironmental reconstructions. *Palaeogeogr Palaeoclimatol* 294: 56-71.

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal*, 11(12), 2639–2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>

Callahan, B. J., Sankaran, K., Fukuyama, J. A., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2016). Bioconductor Workflow for Microbiome Data Analysis: From raw reads to community analyses. *F1000Research*, 5, 1492. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8986.2>

Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., and Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods* 69, 330–339.

Chu, Z., Yang, Z., Wang, Y., Sun, L., Yang, W., Yang, L., & Gao, Y. (2019). Assessment of heavy metal contamination from penguins and anthropogenic activities on Fildes Peninsula and Ardley Island, Antarctic. *Science of The Total Environment*, 646, 951–957. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.152>

COMNAP (Council of Managers of National Antarctic Programs). 2013. *COMNAP Antarctic facilities list*. https://www.comnap.aq/Members/Shared%20Documents/Antarctic_Facilities_list_15May2013.xls. Accessed May 16, 2013.

Coolen, M. (2004). Combined DNA and lipid analyses of sediments reveal changes in Holocene haptophyte and diatom populations in an Antarctic lake. *Earth and Planetary Science Letters* 223, 225–239.

Coolen, M. J. L. & J. A. E. Gibson, (2009). Ancient DNA in lake sediment records. *PAGES News* 17: 104–106.

Cowan, D. A., & Tow, L. A. (2004). Endangered Antarctic Environments. *Annual Review of Microbiology*, 58(1), 649–690. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090811>

Dray, S., Blanchet, G., Borcard, D., Guenard, G., Jombart, T., Larocque, G., ... & Dray, M. S. (2018). Package 'adespatial'. R Package, 2018, 3-8.

Dufrêne, M., & Legendre, P. (1997). SPECIES ASSEMBLAGES AND INDICATOR SPECIES: THE NEED FOR A FLEXIBLE

ASYMMETRICAL APPROACH. *Ecological Monographs*, 67(3), 345–366. [https://doi.org/10.1890/0012-9615\(1997\)067\[0345:SAAIST\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9615(1997)067[0345:SAAIST]2.0.CO;2)

Finkenbinder, M. S., Abbott, M. B., Finney, B. P., Stoner, J. S., & Dorfman, J. M. (2015). A multi-proxy reconstruction of environmental change spanning the last 37,000 years from Burial Lake, Arctic Alaska. *Quaternary Science Reviews*, 126, 227–241.

García-Rodríguez, F., Piccini, C., Carrizo, D., Sánchez-García, L., Pérez, L., Crisci, C., ... Lüning, S. (2021). Centennial glacier retreat increases sedimentation and eutrophication in Subantarctic periglacial lakes: A study case of Lake Uruguay. *Science of The Total Environment*, 754, 142066. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142066>

Hartmann, M., Howes, C.G., VanInsberghe, D., Yu, H., Bachar, D., Christen, R., Henrik Nilsson, R., Hallam, S.J., and Mohn, W.W. (2012). Significant and persistent impact of timber harvesting on soil microbial communities in Northern coniferous forests. *The ISME Journal* 6, 2199–2218.

Hawes, I. (1990). Eutrophication and vegetation development in maritime Antarctic lakes. In *Antarctic ecosystems* (pp. 83–90). Springer, Berlin, Heidelberg.

Hermanson MH & Brozowski JR. 2005. History of Inuit community exposure to lead, cadmium, and mercury in sewage lake sediments. *Environ Health Persp* 113: 1308–1312.

Hilton, J., Davison, W., and Ochsenbein, U. (1985). A mathematical model for analysis of sediment core data: Implications for enrichment factor calculations and trace-metal transport mechanisms. *Chemical Geology* 48, 281–291.

Holmgren SK. 1984. Experimental lake fertilization in the Kuokkel area, northern Sweden: Phytoplankton biomass and algal composition in natural and fertilized subarctic lakes. *Int Rev Gesamte Hydrobiol* 69: 781–817.

Hu, F.S., Finney, B.P., Brubaker, L.B., 2001. Effects of holocene *Alnus* expansion on aquatic productivity, nitrogen cycling, and soil development in southwestern Alaska. *Ecosystems* 4, 358e368.

Izaguirre, I., Vinocur, A., Mataloni, G., & Pose, M. (1998). [No title found]. *Hydrobiologia*, 369/370, 73–87. <https://doi.org/10.1023/A:1017070415024>

Izaguirre, I., Allende, L., Escaray, R., Bustingorry, J., Pérez, G., & Tell, G. (2012). Comparison of morpho-functional phytoplankton classifications in human-impacted shallow lakes with different stable states. In *Phytoplankton responses to human impacts at different scales* (pp. 203–216). Springer, Dordrecht.

Jeffrey SW, Mantoura RFC & Wright SW (eds). 1997. *Phytoplankton pigments in oceanography*. UNESCO, Paris, 661 pp.

Kalff, J., & Welch, H. E. (1974). Phytoplankton Production in Char Lake, a Natural Polar Lake, and in Meretta Lake, a Polluted Polar Lake, Cornwallis Island, Northwest Territories. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 31(5), 621–636. <https://doi.org/10.1139/f74-094>

Kim, M., Morrison, M., and Yu, Z. (2011). Evaluation of different partial 16S rRNA gene sequence regions for phylogenetic analysis of microbiomes. *Journal of Microbiological Methods* 84, 81–87.

Leavitt PR & Hodgson DA. 2001. Sedimentary pigments, p. 295–325. In Smol JP, Birks HJB & Last WM (eds). *Tracking environmental change using lake sediments. Volume 3: Terrestrial, algal and siliceous indicators*. Kluwer

Lee K, Yoon S-K & Yoon HI. 2009 Holocene paleoclimate changes determined using diatom assemblages from Lake Long, King George Island, Antarctica. *J Paleolimnol* 42: 1–10.

Lizotte, M. P. (2008). *Phytoplankton and primary production. Polar lakes and rivers: limnology of arctic and Antarctic aquatic ecosystems*. Oxford University Press, Oxford, 157–178.

Martinez De La Escalera, G., Antoniadou, D., Bonilla, S., & Piccini, C. (2014). Application of ancient DNA to the reconstruction of past microbial assemblages and for the detection of toxic cyanobacteria in subtropical freshwater ecosystems. *Molecular Ecology*, 23(23), 5791–5802.

Martinez-Garcia, M., Brazel, D. M., Swan, B. K., Arnosti, C., Chain, P. S. G., Reitenga, K. G., ... Stepanauskas, R. (2012). Capturing Single Cell Genomes of Active Polysaccharide Degradors: An Unexpected Contribution of Verrucomicrobia. *PLoS ONE*, 7(4), e35314. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035314>

Mataloni, G., Tesolín, G., & Tell, G. (1998). Characterization of a small eutrophic Antarctic lake (Otero Lake, Cierva Point) on

the basis of algal assemblages and water chemistry. *Polar Biology*, 19(2), 107-114.

Mergeay, J., Vanoverbeke, J., Verschuren, D., and Meester, L.D. (2007). EXTINCTION, RECOLONIZATION, AND DISPERSAL THROUGH TIME IN A PLANKTONIC CRUSTACEAN. *Ecology* 88, 3032–3043.

Meyers, P.A., Teranes, J.L., 2001. Sediment organic matter. In: Last, W.M., Smol, J.P. (Eds.), *Tracking Environmental Changes Using Lake Sediments, Physical and Chemical Techniques*, vol. II. Kluwer, Dordrecht, pp. 239e269.

Michelutti N, Hermanson MH, Smol JP, Dillon PJ & Douglas MSV. 2007. Delayed response of diatom assemblages to sewage inputs in an Arctic lake. *Aquat Sci* 69: 523-533.

Oliva, M., Navarro, F., Hrbáček, F., Hernández, A., Nývlt, D., Pereira, P., ... Trigo, R. (2017). Recent regional climate cooling on the Antarctic Peninsula and associated impacts on the cryosphere. *Science of The Total Environment*, 580, 210–223. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.030>

Outridge PM, Hermanson MH & Lockhart WL. 2002. Regional variations in atmospheric deposition and sources of anthropogenic lead in lake sediments across the Canadian Arctic. *Geochim Cosmochim Acta* 66: 3521-3531.

Pacyna, E.G., Pacyna, J.M., Sundseth, K., Munthe, J., Kindbom, K., Wilson, S., Steenhuisen, F., and Maxson, P. (2010). Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmospheric Environment* 44, 2487–2499.

Pearce, D. A. (2003). Bacterioplankton Community Structure in a Maritime Antarctic Oligotrophic Lake during a Period of Holomixis, as Determined by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and Fluorescence in Situ Hybridization (FISH). *Microbial Ecology*, 46(1), 92–105. <https://doi.org/10.1007/s00248-002-2039-3>

Pearce, D. A., van der Gast, C. J., Woodward, K., & Newsham, K. K. (2005). Significant changes in the bacterioplankton community structure of a maritime Antarctic freshwater lake following nutrient enrichment. *Microbiology*, 151(10), 3237–3248. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27258-0>

Pedersen, M.W., Overballe-Petersen, S., Ermini, L., Sarkissian, C.D., Haile, J., Hellstrom, M., Spens, J., Thomsen, P.F., Bohmann, K., Cappellini, E., et al. (2015). Ancient and modern environmental DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370, 20130383.

Peter H-U., Braun C, Janowski S, Nordt A, Nordt A & Stelter M. 2013. The current environmental situation and proposals for the management of the Fildes Peninsula region. Federal Environment Agency (Germany), 195 pp.

Schiffer, M.B. 2013. Scientific Expeditions to Antarctica, p. 137-144. In *Manuals in Archaeological Method, Theory and Technique*. Volume 9: The archaeology of science. Springer.

Schindler DA, Kalff J, Welch HE, Brunskill GJ, Kling H & Kritsch N. 1974. Eutrophication in the High Arctic - Meretta Lake, Cornwallis Island (75°N lat.). *J Fish Res Board Canada* 31: 647-662.

Smol JP. 2008. *Pollution of lakes and rivers: A paleoenvironmental perspective*, 2nd Edition. Oxford: Blackwell.

Smykla, J. E. R. Z. Y., Szarek-Gwiazda, E., & Krzewicka, B. E. A. T. A. (2005). Trace elements in the lichens *Usnea aurantiaco-atra* and *Usnea antarctica* from the vicinity of Uruguay's Artigas research station on King George Island maritime Antarctic. *Polish Botanical Studies*, 19, 49-57.

Tomkins JD, Antoniades D, Lamoureux SF, Vincent WF (2008) A simple and effective method for preserving the sediment-water interface of sediment cores during transport. *J Paleolimnol* 40:577–582. <https://doi.org/10.1007/s10933-007-9175-1>

Turner, J., Barrand, N. E., Bracegirdle, T. J., Convey, P., Hodgson, D. A., Jarvis, M., ... Klepikov, A. (2014). Antarctic climate change and the environment: An update. *Polar Record*, 50(3), 237–259. <https://doi.org/10.1017/S0032247413000296>

Villaescusa, J. A., & Casamayor, Emilio O. (2010). A close link between bacterial community composition and environmental heterogeneity in maritime Antarctic lakes. *International Microbiology*, (13), 67–77. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.112>

Vincent, W. F., MacIntyre, S., Spigel, R. H., & Laurion, I. (2008). The physical limnology of high-latitude lakes. *Polar lakes and rivers: Limnology of Arctic and Antarctic aquatic ecosystems*. Oxford University Press, doi, 10, 65-81.

Vincent, W. F., Hobbie, J. E., & Laybourn-Parry, J. (2008b). Introduction to the limnology of high-latitude lake and river

ecosystems. Polar lakes and rivers: limnology of Arctic and Antarctic aquatic ecosystems, 1-24.

Vinocur, A., & Unrein, F. (2000). Typology of lentic water bodies at Potter Peninsula (King George Island, Antarctica) based on physical-chemical characteristics and phytoplankton communities. *Polar Biology*, 23(12), 858-870.

Wojtu?, B., Kolon, K., Samecka-Cymerman, A., Jasion, M., & Kempers, A. J. (2013). A survey of metal concentrations in higher plants, mosses, and lichens collected on King George Island in 1988. *Polar Biology*, 36(6), 913–918. <https://doi.org/10.1007/s00300-013-1306-8>

Yamamuro, M. & H. Kayanne, 1995. Rapid direct determination of organic carbon and nitrogen in carbonate-bearing sediments with a Yanaco MT-5 CHN analyzer. *Limnol. Oceanog.* 40: 1001–1005.

Yoon H-I, Khim B-K, Lee K, Park Y-H & Yoo K-C. 2006. Reconstruction of postglacial paleoproductivity in Long Lake, King George Island, West Antarctica. *Pol Polar Res* 27: 3: 189-206.

Zapata M, Rodriguez F & Garrido JL. 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: A new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine containing mobile phases. *Mar Ecol Prog Ser* 195: 29-45.

Zhao, Y., & Xu, C. (2000). Human impacts on the terrestrial ecosystem of Fildes Peninsula of King George Island, Antarctica. *Journal of Environmental Sciences*, 12(1), 12-17.

Licenciamiento

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)