

El libro cuenta con once capítulos sobre los grupos de paleoindicadores biológicos (unicelulares, vegetales y zoológicos) más utilizados en reconstrucciones ambientales y climáticas, en los que se compila información detallada de cada uno de ellos, técnicas y metodologías de trabajo, así como la presentación de diversos casos de estudio y referencias bibliográficas actualizadas. Rápidamente el lector obtendrá un panorama de los distintos registros biológicos que se utilizan en la Paleolimnología Neotropical.

Los dos primeros capítulos describen los bioindicadores unicelulares donde el lector quedará fascinado con la gran cantidad de información que se puede obtener con tan pequeños organismos, posteriormente se presentan los capítulos relacionados con los paleobioindicadores vegetales como polen, fitolitos, pigmentos sedimentarios y material carbonizado con los cuales se pueden realizar inferencias de cambios ambientales terrestres en la cuenca de estudio. Avanzando en los niveles de organización, se despliegan los capítulos sobre los paleobioindicadores zoológicos (crustáceos, dípteros y moluscos) más utilizados dada su alta sensibilidad y preferencias ecológicas. Finalmente, con el objetivo de que el lector pueda comprender y posteriormente explorar con la práctica el campo y laboratorio de la paleolimnología se presenta un capítulo enfocado a los métodos estadísticos más utilizados en las reconstrucciones paleoambientales.

PALEOBIOINDICADORES LACUSTRES NEOTROPICALES

Editores

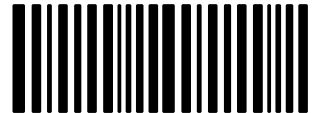
Liseth Pérez

Julieta Massaferró

Alexander Correa-Metrio

PALEOBIOINDICADORES LACUSTRES NEOTROPICALES

CODIGO ISBN



CODIGO ISBN



Paleobioindicadores lacustres neotropicales

Editado por

Liseth Pérez

Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, 04510, Ciudad de México, México
lcpereza@geologia.unam.mx

Julieta Massaferró

CONICET, CENAC/APN Fagnano 244, Bariloche, Argentina
julimassaferró@hotmail.com

Alexander Correa-Metrio

Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, 04510, Ciudad de México, México
acorrea@geologia.unam.mx

Asistente de edición

Karla Zurisadai Rubio Sandoval

Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, 04510, Ciudad de México, México
karla_zrsdz@hotmail.com

Editorial (UNAM)

ISBN: 978-607-30-0209-7

Tapa: Florencia Crocco

Dedicatoria

El presente libro está dedicado a todos aquellos estudiantes e investigadores Latinoamericanos y colaboradores, a quienes desde un inicio les apasionó aprender sobre el pasado y dedican horas y toda una vida a recabar información sobre cambios ambientales y climáticos actuales y pasados. Especialmente, a Mark Brenner y resto de paleolimnólogos y paleoclimatólogos neotropicales, quienes han compartido su conocimiento sobre los ecosistemas acuáticos neotropicales, y han inspirado a muchos estudiantes Latinoamericanos a sumergirse en el mundo del estudio de los sedimentos lacustres, asesorándolos e integrándolos en proyectos nacionales e internacionales para demostrar su potencial. Finalmente, a todos los autores de los diferentes capítulos compilados en este libro quienes colaboraron exitosamente con respeto y armonía, siendo un ejemplo para el resto de la comunidad científica.

Agradecimientos

A todos los autores de los once capítulos, quienes con mucha dedicación prepararon los textos y realizaron las revisiones sugeridas, así como a todos los expertos que nos apoyaron en las revisiones de los capítulos. Estamos muy orgullosos de su esfuerzo y del producto obtenido. Especialmente agradecemos a los proyectos PAPIIT IA101515, CONACYT 252148, y al proyecto de cooperación bilateral entre México y Argentina CONACYT-CONICET 190519, los cuales dieron origen a la idea de la creación de este libro al identificar la falta de información taxonómica y ecológica para muchos de los grupos taxonómicos con potencial paleolimnológico en la región Neotropical, y que promovieron la cooperación entre diferentes disciplinas y países en Latinoamérica.

Prefacio

A nivel mundial, la paleolimnología ha sido una herramienta utilizada para realizar reconstrucciones ambientales en los sistemas lacustres. Estos estudios han permitido conocer los procesos del cambio climático, la evolución de los cuerpos de agua, los cambios en las comunidades terrestres, así como los efectos del impacto humano sobre los ecosistemas. Sin embargo, en la región Neotropical, esta Ciencia no se comienza a explorar hasta la década de los 80. Actualmente, gracias al aumento de las capacidades humanas y tecnológicas y sin duda, gracias a la inmensidad de recursos acuáticos de la región, se han multiplicado los trabajos paleolimnológicos en esta área, motivo el cual impulsó la publicación de este libro. En este trabajo, se muestran las investigaciones y los numerosos avances alcanzados a partir del estudio de paleobioindicadores lacustres (diatomeas, amebas testadas, polen, fitolitos, pigmentos sedimentarios, material carbonizado, cladóceros, ostrácodos, quironómidos, moluscos, entre otros) realizados a lo largo y ancho de la región Neotropical. Es de gran satisfacción resaltar que la mayoría de autores que participaron en esta exhaustiva compilación de información y resultados son investigadores y estudiantes latinoamericanos, lo cual demuestra un alto potencial para futuras colaboraciones internacionales.

El libro cuenta con once capítulos escritos por los especialistas de los distintos grupos de paleoindicadores biológicos (unicelulares, vegetales y zoológicos), en donde por primera vez se compila información detallada de cada uno de ellos, técnicas y metodologías de trabajo, así como la presentación de diversos casos de estudio y referencias bibliográficas actualizadas. Los capítulos fueron diseñados para que el lector obtenga rápidamente un panorama de los distintos registros biológicos que se utilizan en la Paleolimnología Neotropical y sus potenciales como herramientas de reconstrucción ambiental y climática. Los dos primeros capítulos describen los bioindicadores unicelulares donde el lector quedará fascinado con la gran cantidad de información que se puede obtener con tan pequeños organismos, posteriormente se presentan los capítulos relacionados con los paleobioindicadores vegetales como polen, fitolitos, pigmentos sedimentarios y material carbonizado con los cuales se pueden realizar inferencias del cambios ambientales terrestres en la cuenca de estudio. Avanzando en los niveles de organización, se despliegan los capítulos sobre los paleobioindicadores zoológicos (crustáceos, dípteros y moluscos) más utilizados en las reconstrucciones ambientales dada su alta sensibilidad y preferencias ecológicas. Finalmente, con el objetivo de que el lector pueda comprender y posteriormente explorar con la práctica el campo y laboratorio de la paleolimnología se presenta un capítulo dedicado a los métodos estadísticos más utilizados en las reconstrucciones paleoambientales.

Conscientemente, invitamos a investigadores de diferentes países y grupos de investigación a colaborar para la elaboración de cada capítulo, con lo cual esperamos se fortalezcan nuevas redes dentro de Latinoamérica. Este trabajo pretende ser útil para una amplia gama de lectores, tanto para estudiantes experimentados, así como los recién llegados al campo de conocimiento de paleolimnología y especialistas de otras disciplinas relacionadas (limnólogos, científicos ambientales, arqueólogos, geógrafos, geólogos, etc.). Cabe mencionar que, aunque los capítulos de este volumen están orientados a estudios principalmente de ambientes lénticos, muchas de las técnicas e interpretaciones descritas se pueden aplicar a otro tipo de ambientes (turberas, fluviales, estuarios).

El libro “Paleobioindicadores lacustres Neotropicales” pretende ser así una herramienta de estudio en el ámbito de paleolimnología pero, a su vez, apunta a generar nuevos enfoques en las investigaciones científicas actuales. Con este libro, se intenta además fortalecer lazos con otras disciplinas, especialmente con la limnología, la ecología y la geología, para generar interpretaciones más confiables en relación a los cambios ambientales ocurridos en el pasado como así también los cambios del presente, el calentamiento global y otros impactos que están ocurriendo en el mundo moderno con origen antrópico y, de esta manera, establecer información de base para la toma de decisiones y establecimiento de políticas de conservación adecuadas en la región.

Contenido

Indicadores unicelulares

Página

Capítulo 1: Bacillariophyta

Autores: Margarita Caballero, Nora I. Maidana

1. Introducción	1
2. Biología	1
- Origen y evolución	2
- Morfología y taxonomía	3
- Ciclo de vida	5
- Formas de vida	7
- Ecología	9
- Biogeografía	10
3. Metodología	12
- Muestreo de diatomeas modernas	12
- Muestreo de diatomeas para estudios paleoambientales	13
4. Uso de diatomeas como paleobioindicadores	15
- Lago La Luna, Nevado de Toluca, centro de México	15
- Laguna Pululos, Jujuy, Argentina	18
5. Agradecimientos	20
6. Referencias bibliográficas	20

Capítulo 2: Amebas Testadas: Arcellinida y Cercozoa

Autores: Itzel Sigala, Jaime Escobar

1. Introducción	24
2. Biología	25
- Morfología y taxonomía	25
- Hábitat y reproducción	27
- Ecología	28
- Diversidad y biogeografía	31
- Sistemática	32
- Evolución	32
3. Metodología	33
- Muestras actuales en cuerpos lacustres	33
- Muestras fósiles	33
4. Uso de las amebas testadas como paleobioindicadores lacustres	34
5. Perspectivas a futuro	37
6. Agradecimientos	37
7. Referencias bibliográficas	37

Capítulo 3: Polen

Autores: Ma. Socorro Lozano-García, Marcela Sandra Tonello, Silvina Stutz

1. Introducción	44
2. Biología	45
- Origen de los palinomorfos	45
- Mecanismos de dispersión	46
- Preservación	46
- Morfología	46
3. Metodología	47
- Técnicas paleoambientales	47
4. Uso del polen como paleobioindicador en el Pleistoceno tardío y Holoceno	53
- México	53
- Centroamérica	55
- Sudamérica	56
5. Perspectivas a futuro	58
6. Agradecimientos	59
7. Referencias bibliográficas	59

Capítulo 4: Fitolitos

Autores: Alejandro F. Zucol, Margarita Osterrieth, Natalia L. Borrelli, Noelia I. Patterer

1. Introducción	65
2. Biología	66
- Origen y variabilidad	66
- Los fitolitos en la naturaleza	70
3. Metodologías de obtención	72
- Fitolitos en plantas	72
- Fitolitos en suelos, paleosuelos y sedimentos	72
- Características de los fitolitos y su tratamiento	73
4. Los estudios de fitolitos en América Latina	76
5. Perspectivas a futuro	78
6. Agradecimientos	79
7. Referencias bibliográficas	79

Capítulo 5: Pigmentos sedimentarios

Autores: Andrea Lami, Piero Guilizzoni, Patricia Jana, Roberto Urrutia

1. Introducción	85
- Presencia y distribución de pigmentos	86
- Pigmentos como biomarcadores	86
2. Metodología	91
- Determinación espectrofotométrica	91
- Espectroscopia de reflectancia en la reconstrucción climática	93
3. Aplicación de los pigmentos como paleoindicadores	94
- Patagonia Central Argentina	94
- Región Pampeana (Pampa Argentina)	95
- Chile Central	96
4. Perspectivas a futuro	98
5. Agradecimientos	99
6. Referencias bibliográficas	99

Capítulo 6: Partículas de carbón vegetal para la reconstrucción de regímenes de incendios

Autores: Minerva López-Pérez, Alexander Correa-Metrio, Flavia Quintana

1. Introducción	103
2. Escalas de estudio del fuego	104
3. Paleo-Fuego	107
4. Metodología	110
- Registro actual	110
- Registro fósil	111
5. Aplicación de las partículas de carbón vegetal en paleo reconstrucción	115
- México y Centroamérica	115
- Sudamérica	118
6. Perspectivas a futuro	120
7. Agradecimientos	120
8. Referencias bibliográficas	120

Indicadores zoológicos

Página

Capítulo 7: Branchiopoda: Phyllopoda: Diplostraca: Cladocera

Autores: Yosahandy Vázquez-Molina, Edyta Zawisza, Liseth Pérez, Alexander Correa-Metrio

1. Introducción	124
2. Biología de los cladóceros	125
- Hábitat, ciclo de vida y reproducción	125
- Morfología, taxonomía y sistemática	127
- Evolución	128
- Ecología	129
- Biogeografía	129
3. Metodología	129
- Estudio de cladóceros modernos	129
- Estudio de cladóceros en secuencias sedimentarias	130
4. El uso de los cladóceros como paleobioindicadores	131
- México y Centroamérica	132
- Sudamérica	133
5. Perspectivas a futuro	134
6. Agradecimientos	135
7. Referencias bibliográficas	135

Capítulo 8: Crustacea: Ostracoda

Autores: Liseth Pérez, Cecilia Laprida, Gabriela Cusminsky

1. Introducción	138
2. Biología	139
- Hábitat, ciclo de vida y reproducción	139
- Morfología y Taxonomía	140
- Evolución	141
- Sistemática	142
- Clasificación de los ostrácodos	142
- Ecología	144
- Diversidad y biogeografía	145
3. Metodología	146
- Muestras actuales	146
- Muestras fósiles	148
4. El uso de los ostrácodos como paleobioindicadores	149
- México y Centroamérica	149
- El Caribe	152
- América del Sur intertropical	153
Altiplano-Puna	153
Llanura pampeana	154
Patagonia Central y Norte	155
Patagonia austral	156
5. Perspectivas a futuro	158
6. Agradecimientos	159
7. Referencias bibliográficas	159

Capítulo 9: Diptera: Chironomidae

Página

Autores: Julieta Massaferró, Alberto Araneda, Luciana Motta

1. Introducción	165
2. Biología	166
- Ciclo de vida y reproducción	166
- Morfología	167
- Ecología y hábitat	168
- Biogeografía	169
- Taxonomía y sistemática	170
3. Metodología	171
- Actual	171
- Paleo	172
4. El uso de los quironómidos en paleoecología	173
- Centroamérica	174
- Sudamérica	175
Brasil	175
Pampas (Argentina)	175
Patagonia	176
5. Perspectivas a futuro	183
6. Agradecimientos	184
7. Referencias bibliográficas	184

Capítulo 10: Mollusca

Autores: Denisse Álvarez Sanhueza, Claudio G. De Francesco

1. Introducción	192
2. Biología	193
- Diversidad y Taxonomía	193
- Ecología	195
3. Metodología	196
- Actual	196
- Paleo	197
4. El uso de los moluscos como paleobioindicadores	198
- Reconstrucciones paleoambientales	198
- Reconstrucciones paleoclimáticas	201
5. Perspectivas a futuro	204
6. Agradecimientos	204
7. Referencias bibliográficas	204

Capítulo 11: Métodos cuantitativos para la reconstrucción paleoambiental

Autores: Dayenari Caballero-Rodríguez, Alexander Correa-Metrio

1. Introducción	207
2. Características generales de los métodos cuantitativos	208
3. Análogos Modernos (MAT)	210
4. Promedios Ponderados (WA)	213
5. Promedios Ponderados – Mínimo Cuadrados Parciales (WA-PLS)	215
6. LOESS y SyAs	218
7. Aplicación de los métodos mediante R (software)	220
8. Agradecimientos	221
9. Referencias bibliográficas	221

Indicadores unicelulares

Capítulo 1: Bacillariophyta

Margarita Caballero, Laboratorio de Paleolimnología, Instituto de Geofísica, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán, CP 04510, Ciudad de México, México, maga@geofisica.unam.mx

Nora I. Maidana, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental. Laboratorio de Diatomeas Continentales y CONICET- Universidad de Buenos Aires. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA). Ciudad Universitaria, Pab. 2. C1428EHA. Buenos Aires, Argentina, noramaidana@gmail

Palabras clave: Diatomeas, Bacillariophyta, algas, paleolimnología.

1. Introducción

Las Bacillariophyta, más comúnmente conocidas por el nombre de diatomeas, son un grupo de organismos eucariontes unicelulares cuyo tamaño puede variar entre más o menos 10 y 200 μm (0.01 a 0.2 mm), aunque las hay más grandes y más pequeñas. Son importantes productores primarios (Sarhou et al. 2005), cuyos cloroplastos tienen un tono especial, pardo-dorado, que se debe a la presencia de clorofilas a y c y de pigmentos accesorios como el β -caroteno y la fucoxantina. Los cloroplastos de las diatomeas se caracterizan por estar delimitados por 4 membranas y tener lamelas con 3 tilacoides. Estos y otros caracteres (como el flagelo en el gameto masculino, cuando está presente) ubican a las diatomeas dentro de las Chromoalveolata, en el supergrupo Stramenopile.

Una de las características principales de las diatomeas es que tienen una cubierta celular impregnada de sílice que forma una estructura rígida, denominada frústulo, dentro de la cual vive la célula. El frústulo se caracteriza por presentar diversos tipos de perforaciones ordenadas que siguen patrones más o menos intrincados y específicos que permiten, en general, identificar a los principales grupos taxonómicos, inclusive hasta el nivel de especie y variedad. Actualmente, se estima que existen entre 30,000 y 100,000 especies diferentes (Mann y Vanormelingen 2013) y los sistemas de clasificación están en cambio permanente (Cox 2010; Mann 2010; Medlin et al. 2008; Theriot et al. 2010; Williams y Kociolek 2010) por lo que la taxonomía del grupo es muy dinámica y compleja.

Las diatomeas tienen una distribución cosmopolita, ocupan una amplia variedad de hábitats acuáticos e incluso pueden vivir bajo condiciones extremas, desde hielos polares hasta aguas termales. Pueden ser planctónicas o bentónicas, libres o estar

adheridas a diferentes superficies como plantas, sedimento, rocas, etc. Las distintas especies tienen afinidades ecológicas más o menos claras por determinados tipos de ambiente o formas de vida. Su distribución está controlada fundamentalmente por la química del agua (pH, conductividad eléctrica, concentración de nutrientes, etc.) y está estrechamente relacionada con factores como el clima, la geología de la cuenca y el impacto humano (Battarbee 2000; Round et al. 1990). Es por ello que las diatomeas son utilizadas como bioindicadores de calidad de agua en distintos ecosistemas acuáticos (Battarbee et al. 2004; Berthon et al. 2011; Salomoni et al. 2006). Los frústulos silíceos son resistentes a la degradación y se preservan en los sedimentos que se acumulan tanto en mares como en lagos o ríos, y esto permite que también sean sumamente útiles como indicadores de cambios ambientales pasados (paleoambientales) (Battarbee 2000). Si bien el empleo de las diatomeas como bioindicadores requiere de un conocimiento profundo de la taxonomía y ecología de las especies actuales, la información taxonómica, biogeográfica y ecológica disponibles para las diatomeas es, en general, insuficiente (Mann y Droop 1996; Mann y Vanormelingen 2013) y está centrada en ciertas zonas geográficas donde el estudio de este grupo tiene una larga tradición, como es el caso de Europa. Este tipo de información es más limitada para otras regiones, como Latinoamérica y el Caribe, donde los estudios taxonómicos y ecológicos de diatomeas son menos abundantes y relativamente recientes; por lo tanto es muy importante ampliar el conocimiento de la biología, ecología y distribución de las diatomeas en estas regiones para así sustentar su uso como bioindicadores neo y paleoambientales.

2. Biología

Origen y Evolución

Las diatomeas forman parte del supergrupo Stramenopile, que incluye, entre otras, a las algas pardas y a las crisofíceas. Los estudios de filogenia molecular las relacionan estrechamente con las Bolidophyceae (pequeños flagelados marinos sin cubierta de sílice) y con las Parmales, que también son algas unicelulares marinas pero no son flageladas y tienen una cubierta silíceo formada por placas (Graham et al. 2009).

Los fósiles más antiguos generalmente aceptados como diatomeas son del Jurásico (~190 Ma) aunque su origen puede remontarse inclusive al Triásico ya que por métodos moleculares se estima un máximo probable para el origen de este grupo de hasta 240 Ma (Sims et al. 2006); sin embargo es a partir del Cretácico inferior que las diatomeas tienen un amplio registro fósil (Gersonde y Harwood 1990). Las primeras diatomeas fósiles son marinas, las formas dulceacuícolas aparecen un poco más tarde, durante el Cretácico superior (~70 Ma). Ejemplares de estas primeras diatomeas dulceacuícolas se encuentran preservados en los sedimentos de la Formación Tarahumara, en el estado de Sonora, en el noroeste de México (Chacón-Baca et al. 2002). Las formas dulceacuícolas se diversificaron rápidamente durante el Eoceno (55

Ma), y para el Mioceno (23 Ma) ya existían la mayoría de géneros dulceacuícolas modernos.

Morfología y Taxonomía

El frústulo de las diatomeas está formado por dos partes (de allí el nombre de diatomeas), cada una de las cuales se llama teca y siempre una de ellas es un poco más grande (epiteca) que la otra (hipoteca). La pieza principal de cada teca es denominada valva y al conjunto de las bandas o cinturones que sirven para unir a las dos tecas que forman al frústulo se le llama cíngulo (Fig. 1a). Los patrones de ornamentación que tienen las valvas de las diatomeas son una de las principales características utilizadas en la taxonomía de este grupo, por lo que para su estudio es necesario familiarizarse con algunos términos básicos que definen a estas estructuras (Pinto-Torres et al. 2014).

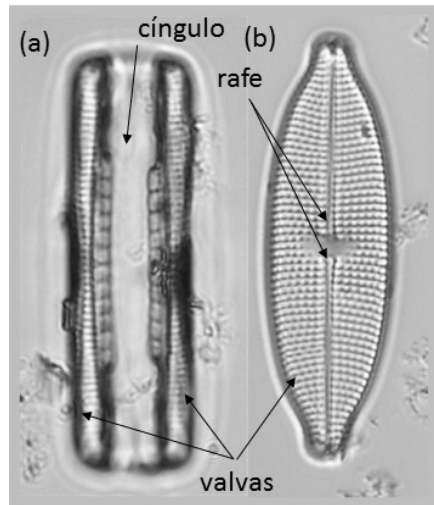


Figura 1. Vista cingular (a) y vista valvar (b) de una diatomea pennada: *Mastogloia smithii* Thwaites. En la vista cingular (a) se aprecian las dos valvas y el cíngulo que conforman el frústulo. En la vista valvar (b) se aprecian las dos ramas el rafe a lo largo del eje longitudinal de la valva.

La taxonomía del grupo es muy compleja, sobre todo para los niveles superiores al de especie o género (Mann 2010; Medlin et al. 2008; Theriot et al. 2010; Williams y Kociolek 2010). Esto se debe a que los grupos propuestos en los diferentes sistemas de clasificación han sido establecidos con criterios predominantemente morfológicos y no representan grupos monofiléticos, lo que ha dado pie a que se propongan esquemas de clasificación basados en diferentes hipótesis filogenéticas. En la literatura más reciente encontramos principalmente tres esquemas de clasificación. El de Simonsen (1979) que distingue dos órdenes dentro de la clase Bacillariophyceae: i) Centrales (o Biddulphiales), con perforaciones que se disponen radialmente a partir de un punto o nódulo central y ii) Pennales (o Bacillariales), con perforaciones que se ordenan bilateralmente respecto del eje longitudinal o apical.

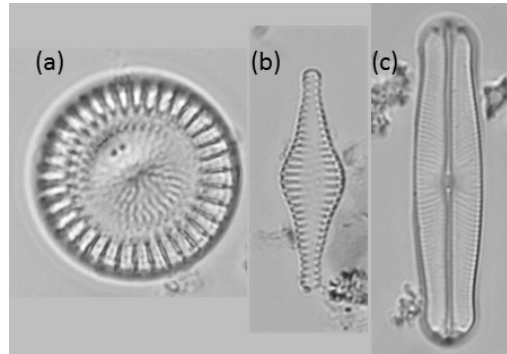
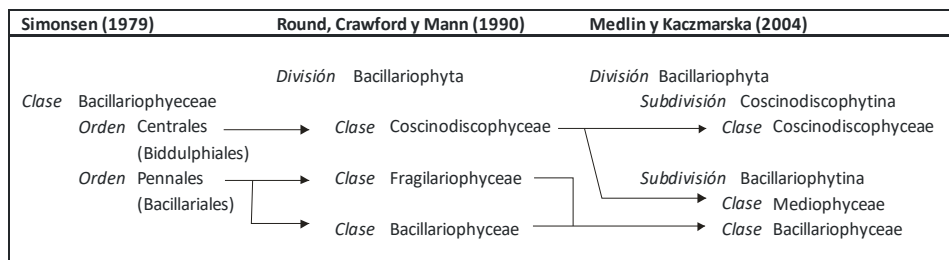


Figura 2. Representantes de las tres clases de la división Bacillariophyceae según la clasificación de Round et al. 1990: a) Coscinodiscophyceae, b) Fragilariophyceae y c) Bacillariophyceae.

Round, Crawford y Mann (Round et al. 1990) reconocen tres clases dentro de la división Bacillariophyceae: i) Coscinodiscophyceae, que contiene a las antes conocidas como diatomeas centrales o céntricas (Figura 2a); ii) Fragilariophyceae que contiene a las pennales o pennadas sin rafe (Figura 2b) y iii) Bacillariophyceae que contiene a las pennadas con rafe (Figura 2c). Finalmente, Medlin y Kaczmarska (Medlin y Kaczmarska 2004), con base en datos genéticos del RNA ribosomal y características morfológicas que involucran no solamente a la ornamentación de la valva, encuentran que las centrales se dividen en dos clados, diferenciados fundamentalmente por la morfogénesis valvar y el tipo de cubierta de la auxospora. La clasificación que proponen identifica dos subdivisiones: i) Coscinodiscophytina, con una única clase Coscinodiscophyceae, donde se ubican las centrales radiales y ii) Bacillariophytina con dos clases, Mediophyceae que incluya a las centrales bi- y multipolares y a las Thalassiosirales y Bacillariophyceae que incluye a todas las pennadas (Tabla 2). Sin embargo, el limitado conocimiento que se tiene hasta el momento sobre la filogenia de este grupo, hace que sea difícil escoger entre los esquemas propuestos ya que ninguno es realmente un sistema de clasificación natural (Williams y Kociolek 2007).

Tabla 1. Cuadro comparativo de tres sistemas de clasificación de diatomeas: Simonsen (1979), Round et al. (1990) y Medlin y Kaczmarska (2004).



Ciclo de vida

Las células vegetativas de las diatomeas son diploides (ciclo de vida monogénético diploide) y durante su ciclo de vida se reproducen varias veces asexualmente por división celular (mitosis) hasta que las condiciones son adecuadas y entonces recurren a la reproducción sexual, la cual se puede dar por fusión gamética isogámica, anisogámica u oogámica. El resultado es una cigota u auxospora, que es capaz de aumentar varias veces su tamaño y luego de un par de divisiones mitóticas, produce una célula inicial provista de dos valvas completas aunque no siempre exactamente idénticas a las de su especie (Graham et al. 2009; Round et al. 1990).

Este crecimiento de la auxospora es de particular importancia para este grupo debido a una particularidad de su ciclo de vida. Al igual que cualquier célula vegetal, las diatomeas pueden aumentar su tamaño y llegar a la división celular después de duplicar su contenido citoplasmático (incluidas las organelas). El problema es que, debido a su característica pared celular rígida, el crecimiento sólo puede producirse en un sentido: separando la epiteca de la hipoteca. Durante la reproducción asexual (mitosis) cada célula hija hereda una teca de la célula parental que pasará a ser denominada epiteca en la nueva célula. Debido a que las valvas hijas se forman dentro del frústulo parental, la nueva teca que se produzca siempre será la hipoteca. Como consecuencia, las diatomeas tienen la peculiaridad de tender a disminuir el tamaño -sobre todo la longitud de las valvas- de una división celular a la otra, dentro de una misma población. Son muy escasas las observaciones de poblaciones en cultivo que no hayan reducido su talla aunque en realidad no se sabe bien a bien qué pasa en la naturaleza. Teóricamente es posible y se ha visto en cultivos de *Eunotia pectinalis*, que no se produjo una reducción de tamaño (Steinman y Sheath 1984) y aún que una teca hija fue mayor que la parental (Round et al. 1990). En algunos casos se ha observado una disminución regular de una división a la otra y, en otros casos, hay períodos de poco cambio seguidos de otros donde la reducción es notable.

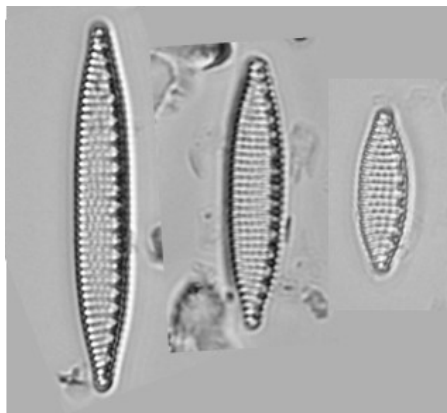


Figura 3. Variación de tamaño que puede tener una misma especie (*Nitzschia amphibia* Grunow) dentro de una misma población (Santa María del Oro, Nayarit, México).

Estos cambios acarrear complicaciones desde el punto de vista taxonómico ya que en general no se conoce bien el rango de variación que va desde la célula inicial al gametocisto. La variación de tamaño puede alcanzar proporciones grandes en el diámetro de la valva (ej. en *Coscinodiscus* se observaron disminuciones de 600 a 250 μm en una especie y de 200 a 50 μm en otra, Round et al. 1990) pero, en general, la reducción es menos marcada en las dimensiones perivalvares (ancho valvar), por lo que en las diatomeas céntricas hay poca variación en los principales rasgos valvares. En cambio en las diatomeas pennadas, como el ancho disminuye mucho menos que la longitud, se observa una tendencia que va desde lo lineal o lineal-lanceolado a lo elíptico y hasta circular (Figura 3). Hay ciertas reglas en el cambio de forma que se cumplen durante la reducción: a menudo se pierden los extremos rostrados o capitados, la heteropolaridad, si existe, es más marcada en las formas más pequeñas. Se ha visto en cultivo que si no hay auxosporulación las células llegan a un tamaño en el cual las divisiones ulteriores son escasas o imposibles y a menudo forman elementos del cingulo (o cópulas) muy grandes, elongando enormemente sus ejes perivalvares. Es en este momento cuando a través de la reproducción sexual se forma la auxospora que al crecer hasta superar ampliamente el tamaño de las células que la originaron, puede reestablecer los tamaños máximos de las especies. Round y colaboradores (1990) reportan que Nipkow (1927) estudió sedimentos laminados de una secuencia de 28 años del lago Zurich y demostró que especies planctónicas exhibían un ciclo sexual (de auxospora a auxospora) de hasta 20 años, siendo los patrones de cambios muy complejos en algunas especies. Lewis (1984) sugirió que estos ciclos largos pueden haber evolucionado reteniendo la habilidad de producir sexualidad minimizando los costos que el sexo acarrea. Dentro de su ciclo de vida, algunas diatomeas también pueden formar células especiales, con paredes muy gruesas y escasas perforaciones, denominadas esporas de latencia o estatosporas. Algunas especies, principalmente aquellas que viven sobre suelo o rocas, pueden sobrevivir a la desecación por un largo tiempo transformándose ellas mismas en “células durmientes” o células de latencia. En algunas formas planctónicas, los estadios de latencia sólo difieren de las células vegetativas por sus paredes más gruesas, su mayor contenido de lípidos y sus plastos más redondeados. Por otro lado, especies de algunos géneros, como *Craticula*, *Epithemia* etc., produciendo tipos característicos de valvas internas por debajo de la pared de la célula vegetativa (Figura 4), en respuesta al estrés osmótico debido a la desecación (Round et al. 1990).



Figura 4. Una valva en vista externa (a) y otra en vista interna (b) de *Epithemia* sp., proveniente de un cuerpo de agua muy somero (<1m), Atlangatepec, Tlaxcala. México.

Formas de Vida

En cuanto a su forma de vida, las diatomeas son básicamente unicelulares aunque algunas especies forman agregados (Figura 5), en los cuales el máximo grado de diferenciación está en la producción de células especiales de separación. En un solo grupo (Chaetoceraceae) se ha observado la fusión de componentes silíceos de células diferentes (las espinas).

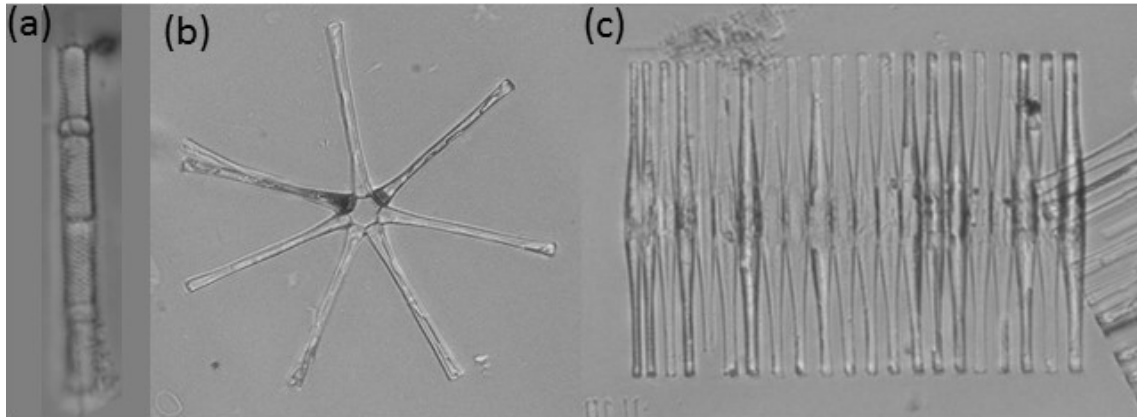


Figura 5. Ejemplos de géneros de diatomeas que forman agregados: a) *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen, laguna Caiti, Provincia de Jujuy, Argentina. b) *Asterionella formosa* Hassall, Zempoala, Edo. México, México. c) *Fragilaria crotonensis* Kitton, Zempoala, Edo. México, México.

Las diatomeas pueden ser libres o vivir adheridas a un sustrato o entre sí por películas adherentes, cápsulas (material externo al frústulo que a menudo se desprende en el medio), cojines (estructuras globulares), pedúnculos (estructuras multiestratificadas, unidireccionalmente depositadas), fibrillas (hebras cristalinas altamente organizadas que parten de la periferia valvar), tubos (estructura pseudofilamentosa que incluye células) o espinas interconectantes (Round et al. 1990). La naturaleza química es diferente, las espinas interconectantes son silíceas mientras que las restantes estructuras son de naturaleza orgánica. Estas sustancias orgánicas, que han sido denominadas comúnmente como mucílagos y actualmente sustancias poliméricas extracelulares (oEPS por sus siglas en Inglés), son macromoléculas secretadas externamente al plasmalemma (Hoagland et al. 1993). No hay duda de que la organización colonial ha sido objeto de una fuerte presión de selección en hábitats particulares en cuanto a la iluminación, adhesión al sustrato, tasa de caída o sedimentación y captura de nutrientes. El mismo tipo de organización colonial se puede presentar en diferentes linajes pero es posible que un cuidadoso análisis de la composición de los polisacáridos o del modo en el cual son secretados revele diferencias filogenéticas en organizaciones coloniales semejantes.

Las diatomeas planctónicas viven en suspensión en la columna de agua; sin embargo, muchas especies planctónicas pasan parte de su ciclo de vida en los sedimentos (meroplancton: ej. *Aulacoseira*) o viven en ellos y por resuspensión se las encuentra en la columna de agua (ticoplancton: ej. *Staurosirella*, *Pseudostaurosira*). En general, en los lagos son pocos los taxones que completan todo su ciclo de vida suspendidos en el agua (euplancton), la mayoría de las especies verdaderamente euplanctónicas viven en ambientes marinos (Battarbee et al. 2001). El desarrollo de las poblaciones planctónicas depende principalmente de la disponibilidad de nutrientes, especialmente silicatos en la columna de agua y de la tendencia de las diatomeas a caer como resultado de la alta densidad de sus paredes silíceas. Muchas especies tienen características que les permiten disminuir su velocidad de caída o sedimentación y mantenerse mayor tiempo en suspensión en la zona fótica. Entre las adaptaciones de las diatomeas planctónicas se puede mencionar la talla pequeña, la presencia de vainas o envolturas de mucílago de baja densidad, la forma de la célula o del agregado, etc. (Round et al. 1990).

Las diatomeas bentónicas viven ya sea adheridas a un sustrato (ej. *Achnanthes*) o libres sobre o entre de los sedimentos (ej. *Pleurosigma*, *Navicula*). Entre las especies adheridas al sustrato, se pueden distinguir células adnatas (estrechamente adheridas contra el sustrato) como *Cocconeis*, *Epithemia*, *Amphora* o *Rhopalodia* y células unidas por pedúnculos o cojines mucilaginosos como *Cymbella* o *Gomphonema*. Los individuos que viven en los sedimentos están adaptados a bajas condiciones de luz y en general suelen ser especies móviles, capaces de migrar. Además, de acuerdo con el sustrato sobre el cual se encuentren, pueden clasificarse en epífitas (vegetales), epilíticas (rocas), epipsámicas (arena) o epipélicas (sedimento fino). La colonización de diversos ambientes por parte de las diatomeas bentónicas depende principalmente de la disponibilidad de un sustrato adecuado y la penetración de la luz (Battarbee et al. 2001).

Existen también formas epizoicas tanto adnatas como pedunculadas, por ejemplo las que viven en el episarco de hidroides, sobre moluscos y crustáceos, en el mucílago de ciliados coloniales, en la piel de vertebrados como las ballenas y en las plumas ventrales de aves zambullidoras. Las diatomeas aerófilas viven entre las hojas de plantas, sobre rocas y suelos húmedos (*Humidophila* spp., *Hantzschia amphioxys*, *Pinnularia borealis*, *Caloneis bacillum* o *Nitzschia palea*). Hay reportes de relaciones endosimbióticas con *Flavobacterium* (Jolley y Jones 1977; Round et al. 1990) y con cianobacterias. En este último caso se ha observado la capacidad de las diatomeas de los géneros *Epithemia* y *Rhopalodia* de fijar nitrógeno vía su simbiote. Se han encontrado diatomeas que viven endosimbióticamente en foraminíferos (Lee et al. 1980; Lee y Correia 2005); o dinoflagelados (Round et al. 1990) y en todos estos casos no forman frústulos dentro del huésped.

Ecología

En cuanto a su distribución en los ecosistemas, las diatomeas son un importante componente de las comunidades acuáticas ya que tienen una distribución cosmopolita y ocupan una amplia variedad de hábitats tanto en ambientes marinos como continentales, lóticos o lénticos. Pueden vivir bajo condiciones extremas, desde hielos polares con temperaturas inferiores a 0° C, hasta en aguas termales con temperaturas que pueden superar los 50°C. Además, pueden vivir no solo dentro del agua sino también en ambientes ligeramente húmedos y hasta temporariamente secos. Su distribución está relacionada con factores tanto físicos (patrones de mezcla, presencia de hielo estacional, intensidad de luz) como químicos (pH, salinidad, composición iónica, concentración de nutrientes) de los cuerpos de agua en los que habitan, factores que a su vez están controlados en gran medida por el clima y la geología de la región y también se pueden ver modificados por impacto humano (Battarbee et al. 2001; Round et al. 1990). Las especies de diatomeas responden rápidamente a los cambios en el ambiente y son bastante específicas a las condiciones en las que viven por lo que se consideran excelentes bioindicadores. Además sus frústulos silíceos no se degradan fácilmente, conservándose en cantidades abundantes en los sedimentos de ríos, lagos y mares por miles y hasta millones de años, lo que permite su estudio a lo largo del tiempo. Las relaciones entre las especies de diatomeas y las características de su hábitat han sido cuantificadas por diversos métodos y usadas para caracterizar ambientes acuáticos, tanto los presentes como los pasados (Battarbee et al. 2001; Mann 1999; Round et al. 1990; Stoermer y Smol 2001). Una aproximación es identificar el porcentaje de especies presentes en una muestra o sitio con determinadas afinidades ecológicas, para ello se deben definir los grupos ecológicos por afinidades de pH, salinidad, nivel de nutrientes, etc. (Tabla 2) e identificar el grupo que domina. Otra aproximación es generar índices empíricos que son fórmulas que utilizan los porcentajes de especies en determinado grupo de afinidad ecológica y que arrojan un valor numérico que es interpretado como un cuantificador de la variable de interés (Nygaard 1956; Renberg y Hellberg 1982; Whitmore 1989). Finalmente se han desarrollado métodos estadísticos mediante los cuales, conociendo la distribución ecológica moderna de las especies (datos de calibración) a lo largo de un gradiente de determinada variable (pH, fósforo, conductividad eléctrica etc.), se generan funciones matemáticas (funciones de transferencia) que relacionan la abundancia de las especies con un valor de la variable a reconstruir (Fritz et al. 1991). Esta aproximación ha sido muy exitosa y mediante ella se han logrado documentar, entre otras cosas, cambios en el pH de lagos relacionados con los procesos de acidificación (lluvia ácida) que afectaron al norte de Europa, Canadá y Estados Unidos a partir de la década de 1960 (Battarbee et al. 2004) y aumentos en los niveles de fósforo relacionados con procesos de eutrofización (eutrofización cultural) en diferentes regiones del mundo (Hall y Smol 1999). No obstante lo atractivo de este método, no está exento de problemas y frecuentemente ha sido mal aplicado, llevando a reconstrucciones espurias (Juggins 2013).

Tabla 2. Clasificación de diatomeas por grupos ecológicos de acuerdo al pH (Hustedt 1937-1938) y salinidad (Lowe 1974) y fórmula para el cálculo del Índice β para reconstrucción de pH (Renberg y Hellberg 1982) (ind = indiferentes, acif = acidófilas, acib = acidobiontes, alcf = alcalifilas, alcb = alcalobiontes).

Espectro de pH (Hustedt, 1937-38)		Espectro de salinidad (Lowe, 1974)	
Categoría	pH óptimo	Categoría	salinidad (mg/l)
		Polihalobias	>40,000
Acidobiontes	<5.5	Euhalobias	30,000-40,000 (marinas)
Acidofilas	?7	Mesohalobias	500 a 30,000 (salobres)
Indiferentes	7	alfa	10,000 a 30,000
Alcalifilas	?7	beta	500 a 10,000 mg/l
Alcalobiontes	>7	Oligohalobias	<500 (agua dulce)
		halofilas	prefieren presencia de sales
		indiferentes	toleran la presneicia de sales
		halofobas	no toleran la presencia de sales
Índice β (Renberg & Hellberg, 1982)			
$\beta = (\% \text{ ind} + 5 \% \text{ acif} + 40 \% \text{ acib}) / (\% \text{ ind} + 3.5 \% \text{ alcf} + 108 \% \text{ alcb})$			

Biogeografía

Algunos autores consideran que las diatomeas son cosmopolitas dado que por su elevada abundancia y tamaño pequeño, tienen una dispersión muy eficiente (Finlay et al. 2002). Bajo este panorama se considera que la distribución de sus especies es más bien controlada por las condiciones fisicoquímicas del medio, lo que explica que frecuentemente se puedan encontrar las mismas especies en regiones geográficas distintas que tengan características similares, como es el caso de África y el centro de México, ambas regiones tropicales con una intensa actividad volcánica (Davies et al. 2002; Gasse 1986). Sin embargo, algunas especies si muestran distribuciones restringidas a ciertas regiones geográficas e incluso existen endemismos. Éstos últimos en general están asociados al aislamiento ya sea por condiciones geomorfológicas particulares (lagos muy antiguos, muy profundos o en regiones muy remotas) o por características fisicoquímicas especiales (pH extremos, temperaturas extremas, salinidades extremas, etc.). Uno de los lagos que reúne estas características es el lago Baikal, un lago que tiene unos 25 millones de años de antigüedad y que llega a una

profundidad máxima de alrededor de 1,700 m. En las aguas frías de este antiguo lago se ha reportado un alto número de especies endémicas (Kulikovskiy 2012), entre ellas *Aulacoseira baicalensis* (K.Meyer) Simonsen y *Cyclotella baicalensis* Skvortzow. Ejemplos de endemismos dentro de Latinoamérica incluyen al lago Alchichica, uno de los más profundos en el centro de México (60 m) que por ubicarse dentro de una zona de clima seco tiene una elevada salinidad (9,000 mg/l) y alcalinidad (pH = 8.7 a 9.2) (Alcocer et al. 2000). Estas condiciones extremas han favorecido la presencia de especies endémicas, entre ellas la diatomea *Cyclotella alchichicana* (Oliva et al. 2006). Otro ejemplo de especies endémicas o con distribuciones muy restringidas son los lagos El Sol y La Luna que se encuentran dentro del cráter del Nevado de Toluca, en el centro de México. Estos son los únicos lagos de alta montaña en México (arriba de 3,000 msnm), y los únicos con aguas frías ($T < 10^{\circ}\text{C}$) y ácidas ($\text{pH} < 6.5$). En estos lagos se reportaron dos especies todavía no descritas de diatomeas (*Navicula* NTA y *Navicula* NTB) que no han sido encontradas en ningún otro lago de la región y posiblemente sean endémicas (Caballero et al. 2009). En lagos y humedales de alta montaña en los Andes se han descrito varias especies que, hasta el momento, no han sido halladas en otras regiones (Seeligmann y Maidana 2013), como *Navicula atacamana* Patrick, *N. salinicola* var. *boliviana* Patrick. En Patagonia ocurre algo similar, con especies como *Navicula nebulosa* Krasske, *Corbellia contorta* Maidana y Roundy *Cymbella gravida* Recasens y Maidana, que tal vez podrían representar especies endémicas. Otras especies descritas originalmente para Patagonia, como *Thalassiosira patagonica* Maidana fueron halladas posteriormente en otras regiones de Sudamérica (Morales et al. 2015).

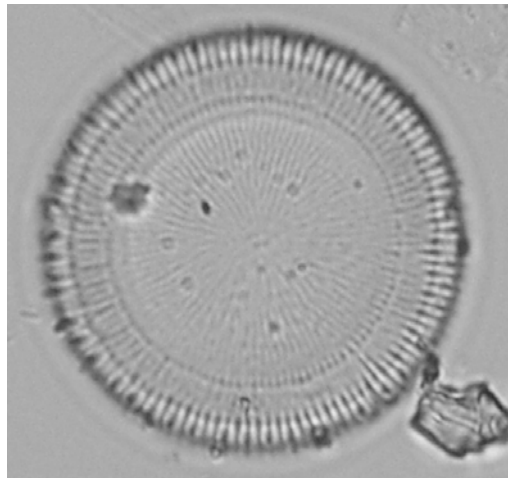


Figura 6. *Cyclotella alchichicana* Oliva, Lugo, Alcocer y Cantoral, Alchichica, Puebla, México.

3. Metodología

Muestreo de diatomeas modernas

Para estudiar a las diatomeas modernas es recomendable muestrear todos los hábitats dentro de un cuerpo de agua en los que sea factible encontrarlas, por ejemplo se deben incluir muestras de columna de agua, de sedimento del centro del lago, sedimento litoral, rocas, plantas o cualquier otro sustrato que pudiera ser colonizado por las diatomeas bentónicas. En la columna de agua el recambio de especies a lo largo del tiempo es muy alto, por lo que para hacer un estudio representativo hay que visitar el lago de preferencia mensualmente, y si esto no es posible por lo menos una vez cada cambio de estación. El muestreo del sedimento, en cambio, puede realizarse una o dos veces al año debido a que el recambio de especies en este ambiente no es tan rápido. Esto se debe a que el sedimento es el destino final de todas las valvas, independientemente de su hábitat, y en él se acumulan las valvas de las especies que habitaron en todos los ambientes del cuerpo de agua, no solo en el momento preciso del muestreo, sino también en los días, meses y hasta años previos, dependiendo de la tasa de sedimentación del lago; los sedimentos, por lo tanto, pueden considerarse como integradores de todo el ecosistema (Douglas y Smol 1993).

Para las especies planctónicas es conveniente coleccionar muestras de agua de entre 500 a 1000 ml a diferentes profundidades en la columna de agua (ej. superficie, media columna y fondo). Con este fin se usan botellas muestreadoras que no son más que un cilindro de acrílico con dos tapas que cierran herméticamente cuando la botella se encuentra a la profundidad deseada. Estas muestras se deben mantener en refrigeración o se pueden fijar con acetato de Lugol; fijar la muestra es indispensable si se pretende estudiar a toda la comunidad fitoplanctónica. Para las diatomeas esto tiene la ventaja de que permite distinguir las células que estaban vivas (con contenido celular) en el momento del muestreo de aquellas que ya estaban muertas, además de que preserva el contenido celular que puede ser un auxiliar en la taxonomía. Con este tipo de muestras se pueden hacer estimaciones cuantitativas de la concentración de células por litro mediante la técnica de Uthermöl, la cual consiste en permitir la sedimentación de las células contenidas en un volumen determinado de muestra en el fondo de una cámara de sedimentación, en donde las valvas presentes son identificadas y enumeradas mediante un microscopio invertido (Edler y Elbrächter 2010). Como ya se explicó, es conveniente que el muestreo de diatomeas modernas incluya la obtención de muestras de sedimento del centro del lago. Esto se logra mediante el uso de una draga o mediante la colecta de un núcleo o testigo sedimentario corto (ver la siguiente sección). Si se mantiene un control del área o del peso del sedimento muestreado, es posible reportar estos datos como concentraciones por unidad de área o de peso de sedimento y, si además se conoce la tasa de sedimentación, se pueden expresar como flujos, lo que es importante para estimar paleoproduktividades (Battarbee 1986). Estas muestras también se deben de mantener en refrigeración o se pueden fijar, en este

caso es conveniente utilizar formol al 4%. Sin embargo, dado que para su identificación correcta al microscopio las muestras deben ser procesadas mediante algún agente oxidante para eliminar el contenido celular y permitir su correcta observación, fijar no es indispensable si se conservan en un ambiente frío que inhiba su reproducción. En cualquier caso el fijar las muestras garantiza que se detenga la reproducción celular y que se pudieran sesgar las proporciones reales entre las especies.

Muestreo de diatomeas para estudios paleoambientales

Para estudios paleoambientales se utilizan muestras de sedimento provenientes de secuencias estratigráficas que cuenten con algún control cronológico que permita interpretar la profundidad de la muestra en términos de tiempo. Esto se logra mediante dataciones radiométricas por métodos como el de $^{40}\text{K}/^{40}\text{Ar}$ o $^{40}\text{Ar}/^{39}\text{Ar}$ para secuencias relativamente antiguas (decenas de miles y hasta millones de años); el de radiocarbono (^{14}C) para secuencias de menos de 60,000 años o el ^{210}Pb para sedimentos jóvenes de menos de 200 años (Bernal et al. 2010). La presencia de horizontes marcadores como cenizas volcánicas de edad conocida también puede ser un auxiliar en la generación de un modelo de edad-profundidad. Los sedimentos pueden colectarse en afloramientos o trincheras en el caso de lagos antiguos que ya no cuenten con un cuerpo de agua actual. Es necesario un buen control de la profundidad de las muestras dentro de la secuencia estratigráfica del afloramiento. Una forma rápida y eficiente de muestrear en este tipo de secuencias es enterrando cilindros o prismas rectangulares huecos de aluminio o acero inoxidable que se recuperan en bolsas de plástico etiquetadas. Ya en el laboratorio se extraen las muestras ya sea raspando la cara interna del muestreador o utilizando émbolos del tamaño adecuado. Para realizar estudios paleoambientales en lagos actuales es necesario obtener núcleos o testigos de la secuencia sedimentaria que se acumula en el fondo. Para ello es necesario contar con lanchas, plataformas y equipos de perforación especializados. Casi todos los equipos de perforación consisten en tubos de algún material resistente (acero inoxidable, aluminio, policloruro de vinilo, etc.) que son enterrados en el sedimento de manera vertical ya sea manualmente, mediante un motor de percusión o por la aceleración de la gravedad durante una caída controlada. Los tubos son recuperados mediante algún mecanismo que garantice que el sedimento contenido no se pierda al ser levantado, como pistones o trampas mecánicas. Una vez recuperados los tubos con sedimento, es conveniente transportarlos lo más pronto posible al laboratorio y allí realizar estudios no invasivos (ej. radiografías, susceptibilidad magnética, etc.) y posteriormente cortarlos longitudinalmente en mitades para observar, describir y fotografiar la secuencia estratigráfica. Con estos datos se puede establecer una estrategia de muestreo ya sea a intervalos regulares de profundidad o por capas estratigráficas. Si el sedimento es muy acuoso o está poco consolidado, no es posible cortarlo y entonces es recomendable extraerlo empujando con un pistón desde la parte inferior de la secuencia de manera controlada e ir retirando cuidadosamente rebanadas de 1 cm de grosor de la parte superior del tubo, a medida que es expulsado.

Preparación de muestras de diatomeas: Para su estudio, las muestras de diatomeas deben ser procesadas de manera que se elimine todo elemento que impida la observación de las valvas al microscopio, como podrían ser carbonatos, materia orgánica (de la diatomea y de la muestra) y sedimentos gruesos (arenas). Para eliminar los carbonatos se utiliza ácido clorhídrico diluido (HCl 10%). Para la materia orgánica se utilizan agentes oxidantes entre los cuales el más frecuentemente utilizado es el peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 30%), aunque existen diversas técnicas que utilizan otros agentes solos o combinados, como hipoclorito de sodio (NaClO al 5%, blanqueador comercial), permanganato de potasio (KMnO₄), ácido nítrico (HNO₃), etc. (Battarbee et al. 2001; Carr et al. 1986; Hasle y Fryxell 1970). El material grueso, como las arenas, puede ser eliminado mediante una decantación rápida de solo unos cuantos segundos, lo que deja atrás solamente al sedimento grueso, mientras las diatomeas permanecen en suspensión y pueden ser transferidas a otro recipiente. Una vez que la limpieza de las muestras se ha completado, deben ser enjuagadas ya sea con una centrifuga o por decantaciones sucesivas de 24 horas, hasta eliminar todo resto de los reactivos utilizados. En este momento, las muestras pueden ser almacenadas en frascos de un volumen conveniente (ej. 30 ml) por un tiempo indefinido hasta que se realice su estudio al microscopio.

Análisis al microscopio: Para realizar el análisis microscópico es necesario montar laminillas permanentes a partir de la suspensión de muestra limpia. Existen diferentes procedimientos (Battarbee et al. 2001), uno de los más sencillos consiste en tomar un volumen fijo (ej. 200 µl) de la suspensión mediante el uso de una micropipeta y depositarlo sobre un cubreobjetos que haya sido limpiado y desengrasado previamente con acetona o etanol, asegurándose que la distribución de la gota abarque toda la superficie del cubreobjetos (lo cual es más sencillo si se utilizan cubreobjetos circulares). La muestra se deja secar a temperatura ambiente y, una vez seca, se monta en un portaobjetos limpio y etiquetado utilizando alguna resina de alto índice de refracción (~ 1.7) como Naphrax® o Zrax®. Las laminillas permanentes se observan al microscopio de luz bajo un objetivo de 100x. Es recomendable utilizar un microscopio que cuente con contraste de fases interferencial. Bajo el microscopio se identifican y cuantifican las valvas presentes siguiendo transectos, hasta alcanzar un mínimo recomendado de 400 valvas por cada muestra. Si la abundancia de diatomeas es baja se requerirá montar más de una laminilla por muestra, si la abundancia es muy alta es recomendable realizar diluciones para facilitar la observación de las valvas. Dado que se tiene control del peso inicial, diluciones, número de transectos diametrales y volumen de muestra montado en la preparación, es posible convertir el conteo de valvas por transecto en concentración de valvas por gramo de sedimento mediante la siguiente fórmula:

$$Ab_{tot} = (C A V_t) / (a V_p \times)$$

Donde:

Ab_{tot} = Abundancia total en valvas por gramo de sedimento seco

C= número de valvas promedio por transecto diametral

A= área del cubreobjetos

a = área del transecto diametral

V_t = volumen de dilución de la muestra total

V_p = volumen de la alícuota utilizada para montar la laminilla

x = gramos iniciales de sedimento seco procesados

Durante el conteo se deben identificar y contar por separado las valvas de cada una de las especies presentes para poder calcular las abundancias por especie ya sea como porcentajes del conteo total (abundancia relativa) o como concentraciones en número de valvas por gramo de sedimento seco (abundancia absoluta).

4. Uso de diatomeas como paleobioindicadores

Dentro de los estudios paleoambientales, se define como *proxy* (plural *proxies*) a aquellos componentes de un archivo ambiental que pueden ser extraídos, identificados y cuantificados de una manera tal que las condiciones ambientales pasadas que se infieran a partir de su análisis, sean confiables y consistentes (Oldfield 2005). Las diatomeas son uno de los *proxies* biológicos más utilizados y constituyen una valiosa herramienta debido a su sensibilidad a variables indicadoras de cambios, como por ejemplo profundidad del cuerpo de agua, temperatura, turbulencia, salinidad, conductividad, pH, oxígeno disuelto, nutrientes, carbono y nitrógeno orgánicos (Round et al. 1990; Van Dam et al. 1994). Sin embargo, los estudios paleoambientales deben ser necesariamente multidisciplinarios, de manera que en un mismo estudio se integren análisis de diversos *proxies* tanto biológicos como físicos o químicos, dado que cada uno de ellos puede ser más o menos sensible a diferentes variables ambientales. Los datos *multiproxy* permiten llegar a una interpretación integral de los cambios en los ecosistemas y a su vez facilitan comprender los factores forzantes de estos cambios, como variabilidad climática, actividad volcánica o impacto humano. En esta sección presentaremos dos ejemplos de estudios paleoambientales realizados en Latinoamérica en los que las diatomeas han sido uno de los *proxies* analizados y que aportaron información relevante sobre cambios ambientales pasados en la región.

Lago La Luna, Nevado de Toluca, centro de México

El Nevado de Toluca es un volcán en el centro de México (Figura 7) dentro de cuyo cráter se encuentran dos lagos: El Sol y La Luna. Estos lagos son ecosistemas únicos en México por su aislamiento geográfico, su elevada altitud (4,200 msnm, por arriba de la línea de la vegetación), y su clima frío con temperatura media anual de 3.8 °C. Estas condiciones geográficas y climatológicas favorecen que estos lagos tengan características físico-químicas muy poco comunes para la región, siendo lagos de

aguas transparentes, frías, con muy baja mineralización, bajo contenido de nutrientes y con valores de pH por debajo de 7. El lago El Sol, de mayor tamaño, es un lago oligotrófico con pH que varía aproximadamente entre 6 y 7; La Luna, de menor tamaño, es un lago ultraoligotrófico, con pH más bajo, que varía aproximadamente entre 5 y 6.5 (Cuna 2015). Esta diferencia en los valores de pH favorece que la flora de diatomeas en ambos lagos sea diferente (Caballero 1996), en El Sol dominan *Cavinula pseudoscutiformis* (Hustedt) Mann y *Stickley Aulacosira distans* (Ehrenberg) Simonsen mientras que en el lago más ácido, La Luna, dominan *Encyonema perpusillum* (Cleve) Mann, *Psammothidium helveticum* (Hustedt) Bukhtiyarovay Round y una especie muy posiblemente endémica identificada como *Navicula* NTA (Caballero 1996).

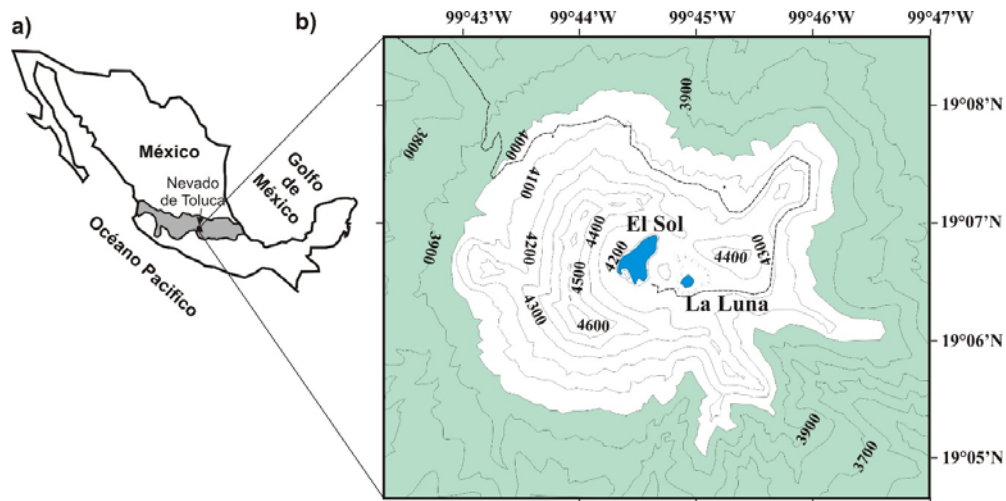


Figura 7. (a) Ubicación del Nevado de Toluca dentro del Cinturón Volcánico Transmexicano (en gris), centro de México y (b) Ubicación del lago La Luna dentro del cráter del Nevado de Toluca, por arriba de la línea de la vegetación (ca. 4000 msnm), Estado de México, México.

Por sus características tan especiales estos lagos han sido objeto de diversos estudios (Alcocer et al. 2004; Armienta et al. 2000; Caballero 1996; Cuna et al. 2014; Dimas Flores et al. 2007; Sinev y Zawisza 2013); entre ellos un trabajo paleoambiental de alta resolución (decadal) que abarca los últimos 800 años aproximadamente (Cuna et al. 2014). Este trabajo fue realizado en un núcleo o testigo corto (57 cm), datado con ^{210}Pb en los primeros 15 cm y una fecha basal de radiocarbono. En este núcleo se realizaron, entre otros, estudios de susceptibilidad magnética, cladóceros y diatomeas (Figura 8), que permiten reconstruir cambios en este lago que están relacionados con la etapa fría conocida como Pequeña Edad de Hielo (PEH). El registro de susceptibilidad magnética permite identificar etapas con mayor o menor arrastre de sedimento a la cuenca por escorrentía superficial, de manera que los valores más bajos corresponden con etapas menos húmedas y viceversa. Según este registro hubo condiciones de

menor humedad en el Nevado de Toluca entre 1360 y 1910, y en particular entre 1610 y 1760. El registro de cladóceros muestra la presencia de una especie -*Chydorus* cf. *sphaericus* (O.F. Mueller)- resistente a condiciones extremas (frío en este caso) y de efipios de *Daphnia longispina* (O.F. Mueller)(huevos de resistencia que también indican condiciones frías) entre 1660 y 1760 (Figura 8).

Con estos dos registros se ubica a la PEH como una etapa fría y seca que inicia aproximadamente en 1360 y termina en 1910, pero con la fase más intensa centrada entre 1660 y 1760. Después de 1760 la tendencia de la temperatura y humedad es hacia una recuperación, hasta llegar a valores similares a los actuales en 1910. Sin embargo entre 1760 y 1910 se registra un cambio brusco en las diatomeas. En casi todo el registro dominan especies muy similares a las que hoy habitan en La Luna: *E. perpusilla* y *Navicula* NTA, pero en el intervalo entre 1760 y 1910 las especies dominantes son *Cavinula pseudoscutiformis* y *Pinnularia microstauron*. Ninguna de estas especies habita hoy en día en La Luna, pero si en El Sol, a un pH mayor. Esto da la pauta para interpretar que durante este período el pH de La Luna se incrementó a valores similares a los de El Sol, permitiendo el desarrollo de estas especies. Este cambio en el pH del lago es una respuesta a la tendencia hacia temperaturas menos frías durante el final de la PEH. Cambios similares, hacia pH más elevados, se han reportado en lagos alpinos como respuesta al calentamiento global de las últimas décadas (Koinig et al. 2002), dado que la temperatura es un control muy importante del pH. Cuando las condiciones climáticas se estabilizan después de 1910, el lago regresa a sus condiciones normales de pH más ácido y con una población de diatomeas nuevamente dominada por *E. perpusilla* y *Navicula* NTA.

Este registro permite confirmar que la PEH no fue solamente un evento que afectó a regiones de latitudes altas como Europa y Estados Unidos de América (EUA), sino que tuvo un impacto climático y ambiental importante en latitudes bajas (tropicales), específicamente en México. El registro de La Luna permite ubicar claramente el momento de máximo enfriamiento entre 1660 y 1760, y confirmar la relación entre el clima y la actividad solar, ya que este intervalo corresponde con el denominado mínimo de actividad solar de Maunder. El incremento de pH detectado en este lago al final de la PEH es una evidencia paleoambiental muy interesante, ya que aplicando esta situación del pasado a las condiciones ambientales presentes, permite predecir que el pH de este lago podría incrementarse como una respuesta al calentamiento global, generando un cambio en las especies que actualmente viven en él. Datos de campo indican que este cambio ya ha empezado a manifestarse, lo cual es evidente al evaluar las tendencias en las mediciones de pH realizadas entre el año 2000 (pH = <5) y el 2011 (pH = 6.2) (Cuna et al. 2014).

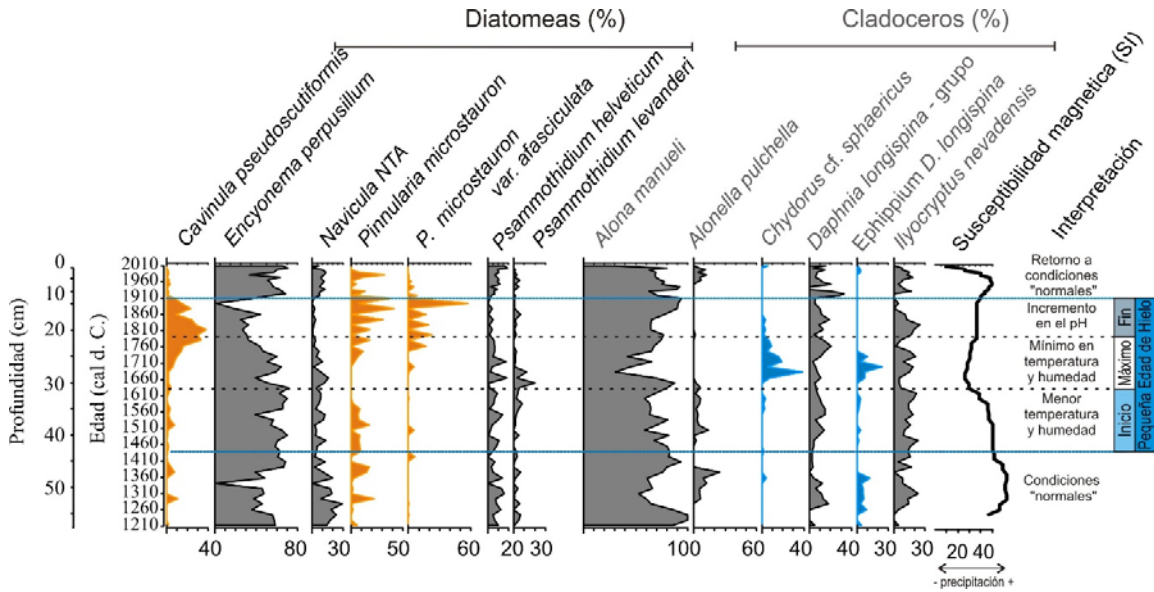


Figura 8. Registro de diatomeas, cladóceros y susceptibilidad magnética de una secuencia sedimentaria de 57 cm proveniente del lago La Luna, Nevado de Toluca datada con ^{210}Pb y una fecha basal de radiocarbono (adaptado de Cuna et al. 2014).

Laguna Pululos, Jujuy, Argentina

Si bien es particularmente escasa la información paleoambiental sobre los últimos 2000 años en los Andes, recientemente se ha publicado una considerable cantidad de información obtenida del estudio de registros lacustres de los Andes Centrales y, particularmente, de los testigos de hielo recuperados en el Glaciar Quelccaya (Thompson et al. 2006) y en el Nevado de Sajama (Bolivia) (Liu et al. 2005). Estos datos han tenido una enormemente relevancia para comenzar a definir las tendencias ambientales generales en el área durante la Anomalía Climática Medieval (ACM) y la Pequeña Edad de Hielo (PEH). Como en otras áreas del planeta, en los Andes Centrales las características de estos eventos climáticos muestran cierto grado de variabilidad dependiendo de la ubicación y los proxies analizados, lo que evidencia la necesidad de incrementar la cantidad de registros paleoambientales. Al respecto, Morales et al. (2015) realizaron un estudio paleoambiental de alta resolución cronológica (decadal) de los últimos 1400 años para el sector NO de la Puna Seca de Jujuy, obtenida a partir del análisis de la composición de los ensamblajes de diatomeas recuperados de un testigo del fondo de la Laguna Pululos (S 22°32'43"; W 66°48'25" 4557 msnm) (Figura 9). Este trabajo se enfocó principalmente a descifrar las tendencias paleoambientales observadas en lo que refiere a las características y cronología de la ACM y la PEH.

Los resultados obtenidos por estos autores señalan la ocurrencia de un período particularmente húmedo – el de mayor humedad de los últimos 1400 años– entre 600 y 800 dC. Luego, entre 800 dC y alrededor de 1500 dC se habrían instalado condiciones

de marcada aridez, con una fase particularmente árida, de unos 100 años de duración entre 1366 y 1463 dC. Estas condiciones de sequía habrían sido reemplazadas por periodos de mayor humedad hasta fines del siglo XIX. Como se desprende de estos resultados, en Laguna Pululos se habrían registrado momentos con características similares a las del ACM y la PEH aunque con marcadas diferencias con el Hemisferio Norte en términos de su cronología y con una mayor duración de las condiciones de aridez de la ACM que en otros sitios estudiados en los Andes (Morales et al. 2015).

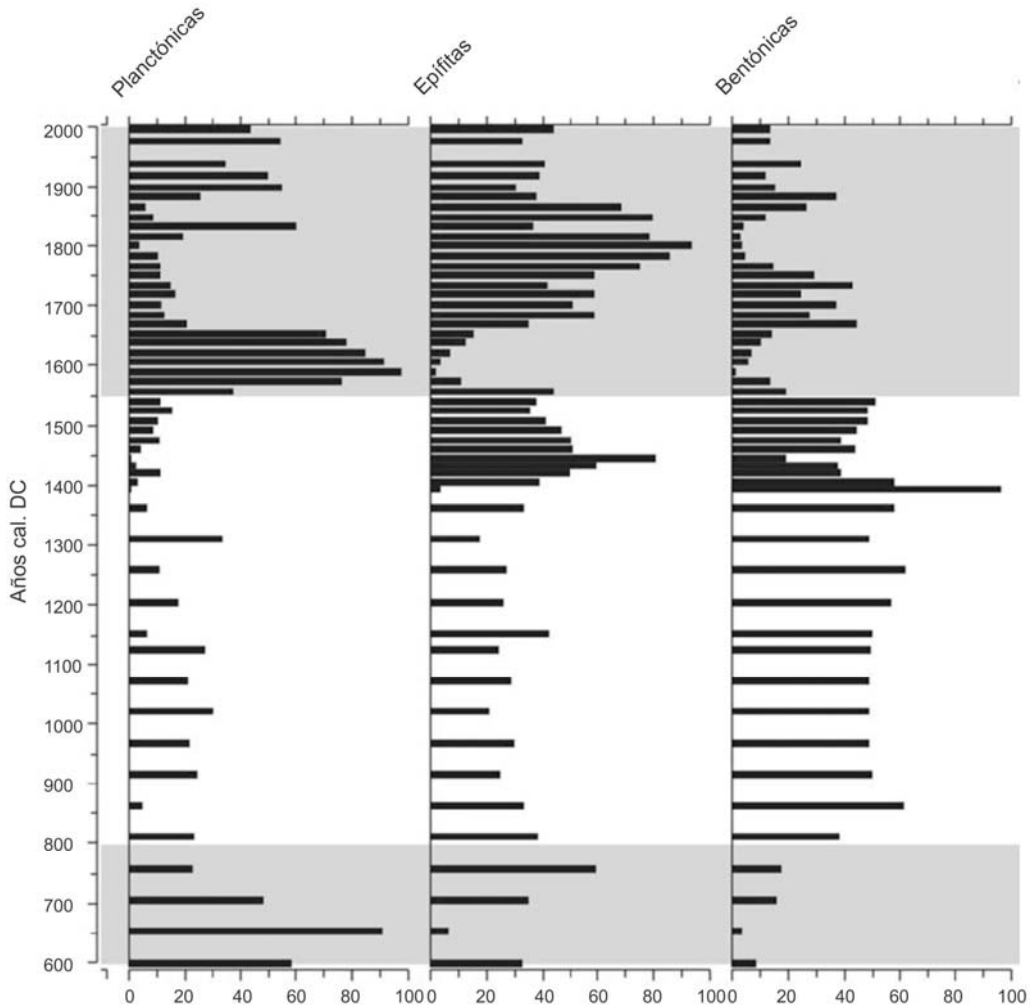


Figura 9. Variaciones en los últimos 2000 años de los ensambles de diatomeas identificadas en el testigo 1012 (Laguna Pululos, Jujuy, Argentina), agrupados según las preferencias de hábitat de las especies (adaptado de Morales et al. 2015).

5. Agradecimientos

Este capítulo surgió como resultado del proyecto de cooperación bilateral México - Argentina (CONACYT-CONICET, CONACYT 190519): “Análisis cuantitativo de paleoindicadores acuáticos (quironómidos, diatomeas y ostrácodos)”.

6. Referencias bibliográficas

- Alcocer J., Lugo A., Escobar E., Sánchez M.R., Vilaclara G. 2000. Water column stratification and its implications in the tropical warm monomictic Lake Alchichica, Puebla, Mexico. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 27:3166-3169.
- Alcocer J., Oseguera L.A., Escobar E., Peralta L., Lugo A. 2004. Phytoplankton biomass and water chemistry in two high mountains, tropical lakes in central Mexico. *Arctic, Antarctic and Alpine Research* 36:342-346.
- Armienta M.A., De la Cruz-Reyna S., Macias JL. 2000. Chemical characteristics of the crater lakes of Popocatepetl, El Chichon, and Nevado de Toluca volcanoes, Mexico. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 97:105-125.
- Battarbee R., Charles D., Dixit S., I. R. 2004. Diatoms as indicators of surface water acidity. In: Stroermer E. y Smol J. (eds), *The Diatoms: applications for the environmental and Earth sciences*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 85-127.
- Battarbee R.W. 1986 Diatom analysis. In: Berglund BE (ed), *Handbook of Holocene palaeoecology and palaeohydrology*. Wiley, Chichester, pp. 527-570.
- Battarbee R.W. 2000. Paleolimnological approaches to climate change, with special regard to the biological record. *Quaternary Science Reviews* 19:107-124.
- Battarbee R.W., Jones V.J., Flower R.J., Cameron N.G., Bennion H., Carvalho L., Juggins S. 2001. Diatoms. In: Smol J.P., Birks H.J.B., Last W (eds), *Tracking environmental change using lake sediments Vol 3: Terrestrial, algal and siliceous indicators*. Kluwer, Dordrecht, pp. 155-202.
- Bernal J.P., Beramendi Orosco L.E., Lugo-Ibarra K.C., Daesslé LW. 2010) Revisión a algunos geocronómetros radiométricos aplicables al Cuaternario. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* 62:305-323.
- Berthon V., Bouchez A., Rimet F. 2011 Using diatom life-forms and ecological guilds to assess organic pollution and trophic level in rivers: a case study of rivers in south-eastern France. *Hydrobiologia* 673:259-271.
- Caballero M., Khursevich G., Velasco de León P. 2009. *Tertiarius hidalgensis* sp. nov., a new diatom species from neogene deposits in central México. *Diatom Research* 24:23-33.
- Caballero M.E. 1996. The diatom flora of two acid lakes in central Mexico. *Diatom Res* 11:227-240.
- Carr J.M., Hergenrader G.L., Troelstrup Jr N.H. 1986. A simple, inexpensive method for cleaning diatoms. *Transactions of the American microscopical society*: 152-157.
- Cox E.J. 2010. Morphogenetic information and the selection of taxonomic characters for raphid diatom systematics. *Plant Ecology and Evolution* 143:271-277.
- Cuna E. 2015. Registro de cambios ambientales en dos lagos de alta montaña en México con base en sus algas modernas y fósiles. Posgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de Mexico, p. 124.

- Cuna E., Zawisza E., Caballero M., Ruiz-Fernández A.C., Lozano-García M.S., Alcocer J. 2014. Environmental impacts of Little ice Age cooling in central Mexico recorded in the sediments of a tropical alpine lake. *J Paleolimnol* 51:1-14.
- Chacón-Baca E., Beraldi-Campesi H., Cevallos-Ferriz S., Knoll A., Golubic S. 2002. 70 Ma nonmarine diatoms from northern Mexico. *Geology* 30:279-281.
- Davies S.J., Metcalfe S., Caballero M., Juggins S. 2002. Developing diatom-based transfer functions for Central Mexican lakes. *Advances in Mexican Limnology: Basic and Applied Aspects*. Springer, pp. 199-213.
- Dimas Flores N., Alcocer J., Ciro Pérez J. 2007. The structure of the zooplankton assemblages from two neighboring tropical high mountain lakes. *Journal of Freshwater Ecology* 23:21-31.
- Douglas M.S., Smol J.P. 1993. Freshwater diatoms from high arctic ponds (Cape Herschel, Ellesmere Island, N. W. T.). *Nova Hedwigia* 57:511-552.
- Edler L., Elbrächter M. 2010. The Utermöhl method for quantitative phytoplankton analysis. In: Karlson B, Cusack C, Brensan E (eds), *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp. 13-20.
- Finlay B.J., Monaghan E.B., Maberly S.C. 2002. Hypothesis: the rate and scale of dispersal of freshwater diatom species is a function of their global abundance. *Protist* 153:261-273.
- Fritz S., Juggins S., Battarbee R., Engstrom D. 1991. Reconstruction of past changes in salinity and climate using a diatom-based transfer function. *Nature* 352:706-708.
- Gasse F. 1986. *East African diatoms, taxonomy, ecological distribution*. J. Cramer, Berlin, 201 + 244 plates pp.
- Gersonde R., Harwood D.M. 1990. Lower Cretaceous diatoms from ODP Leg 113 Site 693 (Weddell Sea). Part 1. Vegetative cells. *Pro ODP Sci Results* 113:365-402.
- Graham L.E., Graham J.M., Wilcox L.W. 2009. *Algae*. Pearson Education Inc., San Francisco.
- Hall R.I., Smol J.P. 1999. Diatoms as indicators of lake eutrophication. In: Stoermer EF, Smol J (eds), *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 128-168.
- Hasle G.R., Fryxell G.A. 1970. Diatoms: cleaning and mounting for light and electron microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society*: 469-474.
- Hoagland K.D., Rosowski J.R., Gretz M.R., Roemer S.C. 1993. Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry, and physiology. *Journal of Phycology* 29:537-566.
- Hustedt F. 1937-1938. Systematische und ökologische Untersuchungen über die Diatomeen-flora von Java, Bali und Sumatra nach der Ergebnissen der Deutschen Limnologischen Sunda-Expedition. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement-Band* 15, 16:131-177, 187-295, 393-506.
- Jolley E.T., Jones A.K. 1977. The interaction between *Navicula muralis* Grunow and an associated species of *Flavobacterium*. *British Phycological Journal* 12:315-328.
- Juggins S. 2013. Quantitative reconstructions in palaeolimnology: new paradigm or sick science? *Quaternary Science Reviews* 64:20-32.
- Koinig K.A., Kamenik C., Schmidt R., Agusti-Panareda A., Appleby P., Lami A., Prazakova M., Rose N., Schnell A., Tessadri R., Thompson R., Psenner R. 2002. Environmental changes in an alpine lake (Gossenköllesee, Austria) over the last two centuries -the influence of air temperature on biological parameters. *Journal of Paleolimnology* 28:147-160

- Kulikovskiy M.S. 2012. Lake Baikal: Hotspot of endemic diatoms. Gantner.
- Lee J., Reimer C.W., McEnery M.E. 1980. The Identification of Diatoms Isolated as Endosymbionts from Larger Foraminifera from the Gulf of Eilat (Red Sea) and the Description of 2 New Species, *Fragilaria shiloi* sp. nov. and *Navicula reissii* sp. nov. *Botanica marina* 23:41-48.
- Lee J.J., Correia M. 2005. Endosymbiotic diatoms from previously unsampled habitats. *Symbiosis* 38:251-260.
- Lewis W.M. 1984. The diatom sex clock and its evolutionary significance. *American Naturalist*: 73-80.
- Liu K.B, Reese C.A., Thompson L.G. 2005. Ice-core pollen record of climatic changes in the central Andes during the last 400 yr. *Quaternary Research* 64:272-278.
- Lowe R.L. 1974. Environmental requirements and pollution tolerance of freshwater diatoms. United States Environment Protection Agency, 333 pp.
- Mann D., Droop S. 1996. Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Biogeography of Freshwater Algae*. Springer, pp. 19-32.
- Mann D.G. 1999. The species concept in diatoms. *Phycologia* 38:437-495.
- Mann D.G. 2010. Discovering diatom species: is a long history of disagreements about species-level taxonomy now at an end? *Plant Ecology and Evolution* 143:251-264.
- Mann D.G., Vanormelingen P. 2013. An inordinate fondness? The number, distributions, and origins of diatom species. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 60:414-420.
- Medlin L., Jung I., Bahulikar R., Mendgen K., Kroth P., Kooistra W. 2008. Evolution of the diatoms. VI. Assessment of the new genera in the araphids using molecular data. *Nova Hedwigia* 133:81-100.
- Medlin L.K., Kaczmarska I. 2004. Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision. *Phycologia* 43:245-270.
- Morales M.R, Bustos S., Maidana N.I. 2015. Registro de diatomeas de los últimos 1400 años de la Laguna Pululos, Jujuy, Argentina. *Ecología Austral* 25:182-191.
- Nipkow F. 1927. Über das Verhalten der Skeletter planktischer Kieselalgen im geschichteten Tiefenschlamm des Zürich und Baldeggersees. *Neue Beiträge zur Biologie der Planktondiatomeen und zur Biomorphose der subalpinen Seen*. ETH Zürich, p. 50.
- Nygaard G. 1956. Ancient and recent flora of diatoms and chrysophyceae in Lake Gribso. *Folia Limnologica Scandinavica* 8:32-94.
- Oldfield F. 2005. Environmental change: key issues and alternative perspectives. Cambridge University Press.
- Oliva M.G, Lugo A., Alcocer J., Cantoral-Uriza E.A. 2006. *Cyclotella alchichicana* sp. nov. from a saline Mexican lake. *Diatom Research* 21:81-89.
- Pinto-Torres M., Diaz C., Maidana N.I., Carcamo P., Frangopulos M. 2014. Atlas de los géneros de diatomeas de aguas continentales en la región de Magallanes. Ediciones Fundación CEQUA, Punta Arenas.
- Renberg I., Hellberg T. 1982. The pH history of lakes in southwestern Sweden, as calculated from the subfossil diatom flora of the sediments. *Ambio* 11:30-33.
- Round F.E, Crawford R.M., Mann D.G. 1990. The diatoms: biology & morphology of the genera. Cambridge University Press.
- Salomoni S., Rocha O., Callegaro V., Lobo E. 2006. Epilithic diatoms as indicators of water quality in the Gravataí river, Rio Grande do Sul, Brazil. *Hydrobiologia* 559:233-246.

- Sarthou G., Timmermans K.R., Blain S., Tréguer P. 2005. Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53:25-42.
- Seeligmann C., Maidana N.I. 2013. ¿Existen especies de *Navicula* (Bacillariophyta) exclusivas de ambientes de alta montaña en Argentina? *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 48:421-433.
- Simonsen R. 1979. The diatom system: Ideas on phylogeny. *Bacillaria* 2:9-71.
- Sims P.A., Mann D.G., Medlin L.K. 2006. Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data. *Phycologia* 45:361-402.
- Sinev A.Y., Zawisza E. 2013. Comments on cladocerans of crater lakes of the Nevado de Toluca Volcano (Central Mexico), with the description of a new species, *Alona manueli* sp. n. *Zootaxa* (in press).
- Steinman A.D., Sheath R.G. 1984. Morphological variability of *Eunotia pectinalis* (Bacillariophyceae) in a softwater Rhode Island stream and in culture. *Journal of Phycology* 20:266-276.
- Stoermer E.F., Smol J.P. 2001. *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge University Press.
- Theriot E.C., Ashworth M., Ruck E., Nakov T., Jansen R.K. 2010. A preliminary multigene phylogeny of the diatoms (Bacillariophyta): challenges for future research. *Plant Ecology and Evolution* 143:278-296.
- Thompson L.G., Mosley-Thompson E., Brecher H., Davis M., León B., Les D., Lin P.-N., Mashiotta T., Mountain K. 2006. Abrupt tropical climate change: Past and present. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103:10536-10543.
- Van Dam H., Mertens A., Sinkeldam J. 1994. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from the Netherlands. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 28:117-133.
- Whitmore T.J. 1989. Florida diatom assemblages as indicators of trophic state and pH. *Limnology and Oceanography* 34:882-895.
- Williams D.M., Kociolek J.P. 2007. Pursuit of a natural classification of diatoms: History, monophyly and the rejection of paraphyletic taxa. *European Journal of Phycology* 42:313-319.
- Williams D.M., Kociolek J.P. 2010. Classifications of convenience: the meaning of names. *Diatom Research* 25:213-216.

Capítulo 2: Amebas Testadas: Arcellinida y Cercozoa

Itzel Sigala, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, itzelsr@yahoo.com.mx

Jaime Escobar, Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Universidad del Norte, Colombia
Smithsonian Tropical Research Institute, Panamá, jhescobar@uninorte.edu.co

Palabras clave: Bioindicadores, ecología, pH, protistas, Neotrópico, salinidad, temperatura.

1. Introducción

Las amebas testadas, también referidas como tecamebas, son un grupo polifilético de protozoos de tipo ameboide. La estructura morfológica por la cual se les había agrupado dentro de una misma Clase (Testacea) es la presencia de una testa con una única cámara y una apertura o pseudostoma (salvo algunas especies que poseen un diafragma que casi divide toda la cámara; ej. *Lesquereusia* y casos excepcionales como la especie *Amphitrema* que presenta dos aperturas). Actualmente se consideran un grupo polifilético, pueden ser divididas por el tipo de pseudópodos que presentan, que pueden ser lobópodos (agrupadas en general en Arcellinida) o filópodos (consideradas como parte del grupo Cercozoa). La morfología de las testas es muy particular para cada especie, lo que permite la identificación de estas amebas utilizando sólo las características de esta estructura. Sin embargo, también se ha observado una amplia variación intra-específica, que ha llevado a la creación de variedades o “ecofenotipos” para describir mejor la diversidad encontrada en los ambientes donde habitan (Asioli et al. 1996; Lahr et al. 2014). Hoy en día se calcula que la diversidad de amebas testadas alcanza las 2000 especies, aunque podría llegar incluso a 4000 (Smith et al. 2008). Son abundantes en ambientes dulceacuícolas (Lansac-Tôha et al. 2000), a pesar de lo cual, Antony van Leeuwenhoek (1632-1723), el primer científico en observar y describir una gran cantidad de protozoos, no reportó amebas testadas. No fue hasta 1754 cuando se publicó el primer trabajo donde se reporta su existencia (Joblot 1754), siendo posteriormente reconocidas también por Lamarck (1816).

Los estudios subsecuentes enfocados ya al estudio de amebas testadas son básicamente listados faunísticos que reportan su presencia en distintas regiones del mundo, como por ejemplo Hungría (Entz 1878), Inglaterra (Brown 1910), Polonia (Schönborn 1965), Argentina (Boltovskoy y Lena 1966), India (Naidu 1966), México (Golemansky 1967), Brasil (Green 1975), Colombia (Grabandt 1983), Yugoslavia (Ogden 1984), Antártica (Smith 1987), Azerbaijan (Aleksperov y Snegovaya 2000), Madagascar (Todorov y Golemansky 2014). Es hasta hace apenas unas décadas que se han descubierto las aplicaciones que pueden tener estos organismos en disciplinas

como la paleobiología, lo que ha hecho que los estudios sobre su biología y ecología aumenten considerablemente (Payne, 2013). Los objetivos de este capítulo son: (1) dar a conocer el potencial que tienen las amebas testadas como bioindicadoras climáticas y ambientales en cuerpos lacustres, (2) detallar la metodología necesaria para su colección, preservación y estudio en lagos y (3) resumir el conocimiento que se tiene hasta el momento de estos organismos en cuerpos lacustres de la región Neotropical.

2. Biología

Morfología y Taxonomía

En algunas especies de amebas, la testa puede ser secretada por el propio individuo (autogénica) y ser de naturaleza proteica (ej. *Arcella*, *Hyalosphenia*), silíceo (ej. *Euglypha*) o calcárea (ej. *Paraquadrula*), formando en la mayoría de los casos placas con formas regulares. Otras especies sólo secretan una sustancia cementante con la cual van aglutinando el material que compondrá su testa (ej. *Centropyxis*, *Diffugia*). El material aglutinado varía desde pequeñas partículas minerales de diferente composición, hasta restos de otros organismos, como frústulas de diatomeas. Existen también especies que depredan amebas más pequeñas y pueden incluir algunas de sus placas para hacer su propia testa (ej. *Lesquereusia*) (Medioli y Scott 1988) (Figs. 1, 2).

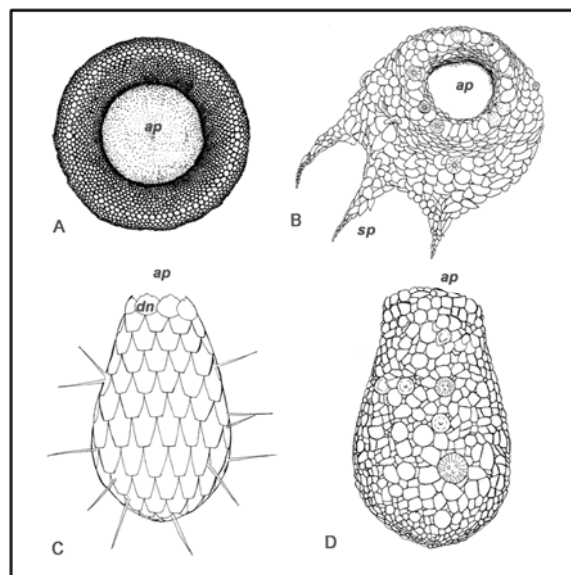


Figura 1. Representación de las principales morfologías y tipos de testa. **A - B**, Testas con morfología tipo "boina"; **C - D**, Testas con morfología tipo "saco". **A**, Testa autogénica con placas circulares que incorporan elementos como Fe y Mn (Delaine et al. 2016), característica del género *Arcella*; **B**, Testa xenogénica con minerales y frústulas de diatomeas aglutinadas, característica del género *Centropyxis*; **C**, Testa autogénica con placas hexagonales de sílice, característica del género *Euglypha*; **D**, Testa xenogénica con minerales y frústulas de diatomeas aglutinadas, característica del género *Diffugia*. *ap*- apertura, *sp*- espina, *dn*- dientes. Ilustración realizada por Andrés Sánchez.

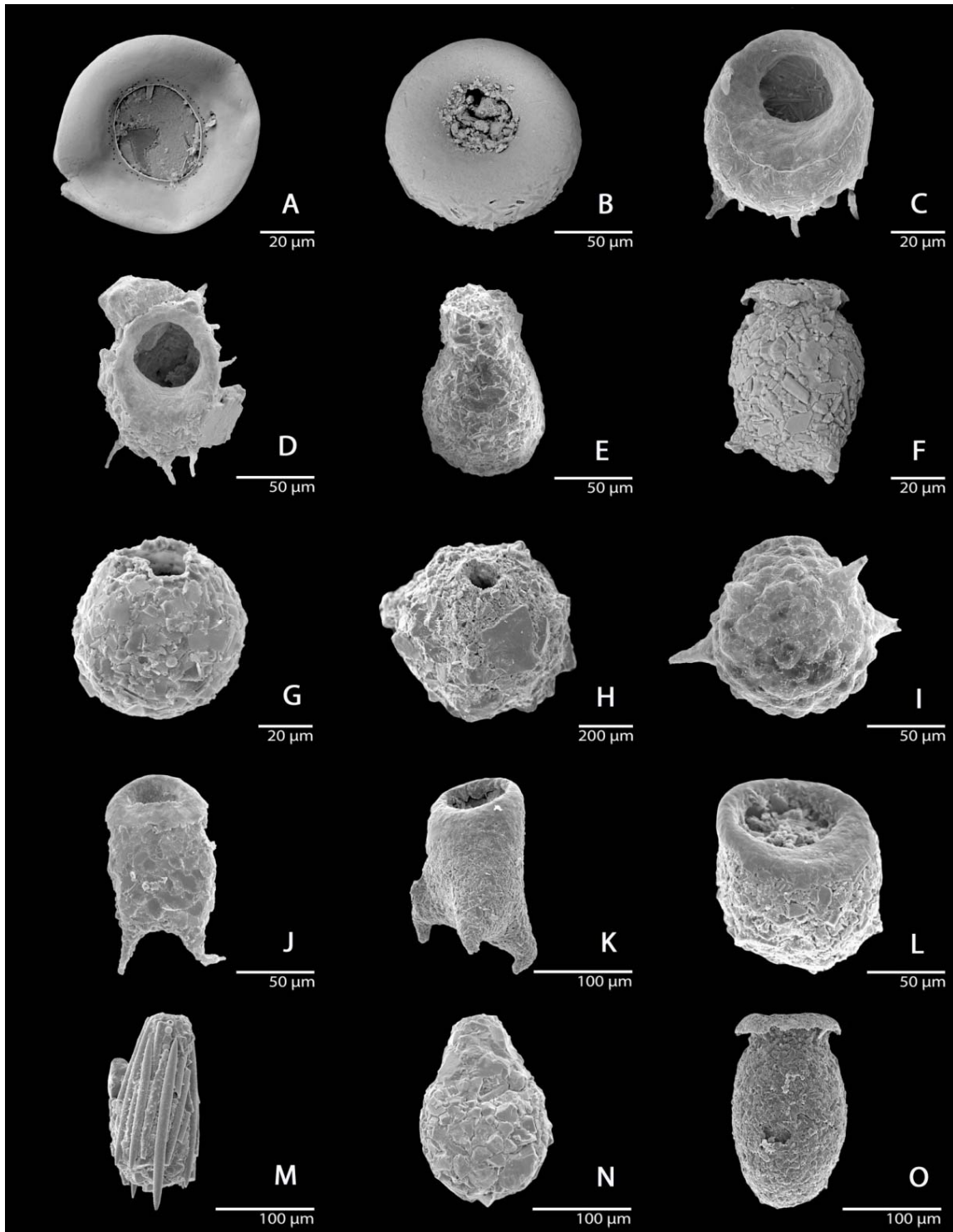


Figura 2. Fotomicrograffas en Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) de algunos géneros de amebas testadas de lagos de la región Neotropical (A-F) y Neártica (G-O), en vista ventral o lateral, con la apertura orientada para arriba. Las imágenes no están a escala, las barras cubren un intervalo de 20 a 200 μm . **A**, *Arcella*; **B - D**, *Centropyxis*; **E - F**, *Diffflugia*; **G**, *Cucurbitella*; **H**, Morfo sp.1; **I - J**, *Diffflugia*; **K**, Morfo sp.2; **L**, *Centropyxis*; **M - O**, *Diffflugia*.

Dentro de la testa se encuentra el citoplasma que, como en otros grupos ameboides, se encuentra dividido en ecto y endoplasma. Del pseudostoma salen los pseudópodos, que pueden ser de tipo lobópodos (más anchos, formados por ambos tipos citoplasmáticos) o filópodos (más delgados, formados sólo por ectoplasma) y que sirven tanto para movimiento como para alimentación (Meisterfeld 2000a; 2000b). Actualmente se considera que esta característica es más importante para su taxonomía, por lo que con base en ella es que se forman nuevos grupos. En estudios moleculares recientes se ha confirmado que esta agrupación refleja mejor la historia filogenética de estos organismos (Nikolaev et al. 2005; Tekle et al. 2008).

El tamaño de una ameba testada puede variar entre 5 y 500 μm (Patterson et al. 2013), y en general no se considera esta característica de importancia taxonómica. Previamente se ha evidenciado el componente genético que determina el tamaño (Hegner 1918; 1919), aunado al factor ambiental. Estudios moleculares más recientes han confirmado algunos de estas especies como entidades discretas, aunque en otras especies, como *Nebela* y *Hyalosphenia*, los estudios han mostrado la presencia de especies crípticas cuya morfología es igual, pero genéticamente son distintas (Oliverio et al. 2014). Si bien la validez taxonómica de las variedades es discutida, en los estudios paleoecológicos realizados se ha observado que, al clasificar hasta ese nivel, se puede mejorar las reconstrucciones ambientales y climáticas, por lo cual ahora se les refiere más como “ecofenotipos” (Asioli et al. 1996; Reinhardt et al. 1998; Patterson y Kumar 2000; Roe y Patterson 2014).

Hábitat y reproducción

Las amebas testadas pueden habitar una gran cantidad de ambientes y se encuentran en cuerpos de agua dulce como ríos, manantiales, presas y lagos (Fernández et al. 2015). Pueden sobrevivir con un mínimo de humedad, por lo que son abundantes también en ambientes terrestres como suelos y musgos (Meyer et al. 2012; Bobrov et al. 2013) y se ha registrado su presencia y gran diversidad en pantanos y turberas (Lamentowicz y Mitchell 2005). Dado que pueden soportar ciertos niveles de salinidad, también se han observado en estuarios y cenotes (van Hengstum et al. 2008; Charman et al. 2010). Aunque por definición no existen especies marinas, hay autores que hacen referencia a especies intersticiales de algunas zonas costeras de Europa (Golemansky y Ogden 1980; Ogden y Couteaux 1989; Todorov et al. 2009) y en la región Neotropical en las costas de Chile (Golemansky y Todorov, 1996).

La mayoría de las amebas testadas lacustres se consideran bentónicas (Medioli y Scott 1988) aunque también han sido registradas en el plancton lacustre (Lansac-Tôha et al. 2000, Velho et al. 2004). Son importantes en el ecosistema como consumidores primarios, siendo muy variada su alimentación, que puede incluir bacterias, hongos, microalgas (con algunas de las cuales pueden incluso establecer relaciones simbióticas mutualistas), diatomeas, protistas, otras amebas testadas (Medioli y Scott 1988) e

incluso rotíferos (Han et al. 2011b) y nemátodos (Yeates y Foissner 1995). La reproducción de las amebas testadas es principalmente asexual (Ogden y Hedley 1980), aunque se han reportado indicios de que algunas especies pueden poseer también reproducción sexual (Mignot y Raikov 1992). Sus ciclos de vida son rápidos y se ha observado que pueden variar de 10 a 100 (Lousier y Parkinson 1984) generaciones por año, aunque en laboratorio pueden ser incluso de 2 a 3 días (Charman 2001), dependiendo de la humedad, temperatura, disponibilidad de alimento y material para construir sus testas (Ogden 1981). Esta velocidad en los ciclos de vida tiene implicaciones importantes para su uso como organismos bioindicadores, pues responden a cambios ambientales rápidos, resultando indicadores más sensibles que otros grupos de organismos con ciclos de vida más largos. En latitudes tropicales se considera que los ciclos son más cortos, mientras que en templadas son más largos (Lousier y Parkinson 1984).

Ecología

El conocimiento que se tiene sobre la ecología de las amebas testadas es distinto para cada ecosistema, pues hay más investigaciones acerca de su diversidad en suelos (Wilkinson 2008; Bobrov et al. 2013; Fernández 2015), musgos (Krashevskaya et al. 2010; Meyer et al. 2012; Oliverio et al. 2014) y turberas (Zapata et al. 2008; Qin et al. 2013; Mitchell et al. 2013; Marcisz et al. 2014 van Bellen et al. 2014), quedando relegada la investigación realizada en ambientes lacustres. Orr (1954) realizó lo que se puede considerar el primer trabajo ecológico en lagos donde ya se incluían amebas testadas. En este estudio obtuvo la abundancia de los protozoos encontrados en el lago Sanctuary, para asociarlo a variables físico-químicas, encontrando la especie *Diffflugia oblonga* en diferentes niveles de la columna de agua, pero sin lograr asociar su presencia a alguna condición ambiental en particular. Los primeros trabajos ecológicos ya enfocados estrictamente a amebas testadas fueron realizados por Schönborn desde 1981, quien en 1984 ya propone la asociación de la especie *Cucurbitella tricuspis* con algunas algas, indicando condiciones eutróficas en un lago y describiendo su fase planctónica.

Recientemente se han observado las aplicaciones que pueden tener los estudios con amebas testadas (Payne 2013), a pesar de lo cual las investigaciones en lagos continúan rezagadas. Aún hoy, algunas publicaciones corresponden únicamente a listados faunísticos (Davidova y Vasilev 2012), mientras que en otros casos sólo incluyen una comparación cualitativa de las especies encontradas en diferentes microhábitats dentro del lago, o registran su variación estacional (Costa et al. 2011), sin incorporar la medición cuantitativa de algunas variables físico-químicas. Es por esto que nuestra comprensión acerca de la ecología de amebas testadas lacustres, especialmente en regiones Neotropicales, es aún bastante limitada.

La mayoría de los estudios ecológicos se concentran en lagos de altas latitudes, en particular de Norte América (Reinhardt et al. 1998; Mattheeussen et al. 2005), siendo los lagos canadienses los más estudiados (Patterson et al. 1996; Patterson y Kumar 2000; Torigai et al. 2000; Neville et al. 2010a,b; Roe et al. 2010; Macumber et al. 2014; Roe y Patterson 2014). Recientemente se destacan las investigaciones realizadas en lagos de China, que cubren desde latitudes templadas a tropicales (Yang et al. 2006; Han et al. 2011a; Ju et al. 2014). En latitudes subtropicales existen pocos trabajos ecológicos (Escobar et al. 2008; Farooqui et al. 2012), siendo un poco más numerosos los estudios en zonas tropicales (Dalby et al. 2000; Escobar et al. 2005), especialmente en Brasil (Azevedo y Bonecker 2003; Maia-Barbosa et al. 2008; de Oliveira y Lopes 2010; Alves et al. 2012).

En las investigaciones con amebas testadas de latitudes tropicales, se han estudiado pocas variables ambientales en comparación con lagos de ambientes templados. Esto es debido en parte a que en las regiones tropicales los estudios ecológicos han presentado baja abundancia de individuos y, por lo tanto, no resultan significativos para la realización de análisis estadísticos robustos (Dalby et al. 2000). Se ha observado también que los índices de diversidad Shannon de lagos en latitudes tropicales y sub-tropicales son generalmente bajos, con rangos de 0.00 a 1.40 en lagos de Barbados (Roe y Patterson 2006), de 0.67 a 1.44 en el lago Sentani, Indonesia (Dalby et al. 2000) y de 0.37 a 2.37 en lagos de Florida (Escobar et al. 2008).

Aunque faltan estudios ecológicos en las zonas tropicales, se ha sugerido que la respuesta de las especies a algunas variables ambientales podría ser distinta de las observadas en zonas templadas. Por ejemplo, en el lago Sentani, en Indonesia (Dalby et al. 2000), se observó que dos especies dominantes, *Arcella vulgaris* y *Centropyxis aculeata*, reportadas en ambientes templados como indicadoras de pH bajos (la primera) y alta salinidad (la segunda) (Bordeau et al. 2005), no responden en este lago a ninguna de estas variables, y su presencia está más bien asociada a la falta de nutrientes y oxígeno, pues este lago es oligomíctico y oligotrófico. Algo similar se registró en el lago La Fe, en Colombia (Escobar et al. 2005) donde se reportaron 6 géneros, 14 especies y 25 subespecies, entre las cuales dominan *Arcella vulgaris* y *Centropyxis aculeata*. En el estudio se observó también que estas especies muestran una respuesta diferente de la reportada en latitudes templadas, en particular al pH.

Algunos estudios en latitudes tropicales, sugieren que las especies responden a cambios ambientales estacionales. En un estudio realizado en tres lagos de Brasil se observó que los géneros más representativos de amebas testadas en el zooplankton eran *Arcella* y *Diffugia* (Azevedo y Bonecker 2003). De Oliveira y Lopes (2010) han estudiado otros cuerpos lacustres en Brasil, donde la especie más abundante fue *Centropyxis aculeata*. Las mayores abundancias las representan las familias Centropyxidae, Arcellidae y Diffugiidae. Las familias Centropyxidae y Diffugiidae se encontraron en mayor densidad en períodos de lluvia, y Arcellidae y Nebelidae en

periodos secos. Estas relaciones se asocian con una mayor concentración de sólidos disueltos totales, temperatura, turbidez y color, durante el período de lluvias. Si bien este lugar de estudio tenía influencia de aguas lóxicas (los puntos de muestreo fueron pozos formados en la caída de diferentes cascadas), en el lago Sadatal de India (Farooqui et al. 2012) se encontraron resultados similares, donde *Arcella vulgaris* y tres variedades de *Centropyxis aculeata* fueron las especies dominantes, y cuya concentración fue mayor durante el monzón de verano. En este caso, las variables asociadas fueron la temperatura, el pH y el sodio.

Otra observación importante que se ha registrado en latitudes tropicales es la mayor abundancia y diversidad en las zonas litorales respecto a zonas más profundas del lago, donde se encuentra vegetación acuática, y cuyos detritos parecen favorecer a las amebas testadas, probablemente al proveerles una fuente constante de alimento (Azevedo y Bonecker 2003; Maia-Barbosa et al. 2008). Estos estudios se han realizado en Brasil, donde se ha estudiado la ecología del zooplancton en diversos ríos y lagos. Se ha encontrado también que, en general, en amebas testadas y microcrustáceos, los individuos que habitan en el plancton de la zona limnética son más pequeños, en respuesta a la necesidad que tienen de mantenerse a flote, mientras que los organismos bentónicos tienden a ser más grandes, respondiendo a la estabilidad que presenta ese microambiente (Alves et al. 2012).

En los estudios de latitudes templadas, uno de los factores ambientales que ha resultado ser determinante para la presencia y abundancia de amebas testadas en lagos, es el tipo de sustrato (Reinhardt et al. 1998). Varios autores han sugerido que incluso más que el tipo de sustrato, lo que se selecciona es el tamaño del material utilizado para construir la testa (Mattheeussen et al. 2005; du Chatelet et al. 2010). En Canadá se ha asociado a la especie *Diffflugia bidens* con una gran entrada de clastos al cuerpo de agua, sirviendo en este estudio como paleoindicadora de deforestación o periodos sin vegetación circundante al lago (Patterson et al. 1985). Un estudio en Finlandia corrobora la asociación de esta especie con la entrada de material terrígeno (Kihlman y Kauppila 2012). En un núcleo tomado en la Isla Richards (Canadá), la especie *Diffflugia oblonga* se ha asociado a sustratos ricos en materia orgánica, como *gyttja* (Dallimore et al. 2000). Macumber et al. (2014) también muestran que existe selectividad respecto al tamaño de los materiales incorporados a la testa, al menos para el caso de *Diffflugia protaeiformis* "claviformis". Numerosos estudios, apuntan también a la eutroficación como uno de los factores ambientales clave, en particular para la especie *Cucurbitella tricuspis*. Esta relación ecológica fue propuesta primero por Schönborn (1984) y retomada en numerosos estudios tanto ecológicos como paleoecológicos (Patterson et al. 1985; Torigai et al. 2000; McCarthy et al. 2012; Macumber et al. 2014). En estudios paleoecológicos también se ha asociado a *Diffflugia protaeiformis* con el incremento en la materia orgánica (Asioli et al. 1996).

La sensibilidad que poseen las amebas testadas a la presencia de contaminantes, en particular de metales pesados derivados de la actividad minera, ha impulsado un elevado número de estudios al respecto. Si bien la contaminación por estos metales puede limitar el crecimiento de distintos géneros, se ha encontrado que especies como *Centropyxis aculeata*, *C. constricta* y *Arcella vulgaris*, responden positivamente a la presencia de elementos como el mercurio y el arsénico (Patterson et al. 1996). También se observó que especies del género *Arcella* tienen afinidad por metales como la plata, pues los incorporan a su testa (Patterson et al. 1996). Para este género se conoce además que el típico color que toman los organismos más viejos es debido a la bioacumulación de manganeso y hierro (Meisterfeld, 2000a). En otros estudios se ha identificado a *Diffflugia protaeiformis* var. *rapa* como buena indicadora de largos períodos de contaminación por sulfatos de cobre, amonio y nitritos (Asioli et al. 1996), e incluso Neville et al. (2010a) encontraron que los ácidos nafténicos eran el factor que más influía en la distribución de las especies.

El pH de la columna de agua es otro factor ambiental al que también responden las especies de amebas testadas en lagos (Kihlman y Kauppila 2009). La especie que en más estudios se ha registrado asociada a bajos valores de pH es *Arcella vulgaris* (Boudreau et al. 2005; Patterson y Kumar 2000). Las especies lacustres también parecen responder a factores como la temperatura. Sin embargo, esta relación ambiental aún no es bien entendida, pues hay especies como *Diffflugia globulus*, que era considerada indicadora de temperaturas bajas (Asioli et al. 1996), pero en estudios posteriores se observó que puede tolerar también temperaturas altas (Burbidge y Schröder-Adams 1998).

Es importante resaltar que falta mucho por conocer acerca de la ecología en lagos de amebas testadas, especialmente en regiones Neotropicales, información necesaria para aplicarse en estudios paleoambientales.

Diversidad y biogeografía

Las diferencias entre las amebas testadas de los hemisferios norte y sur han sido registradas desde el siglo pasado, dando lugar a modelos que relacionan las distribuciones de ciertas especies con la paleogeografía de Gondwana y Laurasia. Sin embargo, se debe reconocer también que el esfuerzo de muestreo ha sido mucho mayor en Europa, en comparación con otras regiones del mundo (Smith et al. 2008). La distribución geográfica de los microorganismos es un debate que aún continúa vigente, pues autores como Finlay (2002) consideran que éstos se encuentran distribuidos en todo el mundo (son ubicuos), y no están realmente delimitados geográficamente. Uno de sus argumentos es que el número global de especies es bajo, comparado, por ejemplo, con organismos macroscópicos como los insectos, que sí presentan endemismos y cuya riqueza específica global es mucho mayor. A favor de los endemismos, se ha observado el caso de la especie *Apodera vas*, considerada clásica

del hemisferio sur y cuya presencia no se ha registrado en el hemisferio norte, a pesar del amplio muestreo realizado en Europa (Mitchell y Meisterfeld 2005; Smith y Wilkinson 2007). Algunas observaciones indican que el tamaño es determinante para la dispersión de las especies de las amebas testadas, pues *Apodera vas* es una especie grande (aproximadamente entre 130µm y 210µm), mientras que otras de menor tamaño (<20µm) han mostrado una distribución cosmopolita, encontrándose incluso en ambos polos (Yang et al. 2010). Sin embargo, es importante resaltar de nuevo que hacen falta más estudios taxonómicos en el Neotrópico, información importante que falta para tener un debate robusto sobre la diversidad y biogeografía de estos organismos. Fernández et al. (2015) hicieron una lista de la diversidad de amebas testadas en Chile y algunos registros de Argentina, mientras que Fernández et al. (2016) demostraron que las amebas testadas exhiben el mismo patrón biogeográfico exhibido por varias plantas y animales en Chile (un patrón latitudinal unimodal), y que las causas que originaron (y que hoy día mantienen) este patrón biogeográfico son las mismas que dan forma a los patrones biogeográficos de los organismos multicelulares, es decir: procesos ecológicos, históricos y evolutivos.

Sistemática

En Lee (1985), Testacea ya no es considerada un taxón monofilético. Recientemente, la forma de los pseudópodos (lobosea o filosea) ha sido considerada como una característica taxonómica importante. De acuerdo a ello, las amebas testadas loboseas son clasificadas dentro de la Clase Lobosea Carpenter, 1861, mientras que las amebas testadas filoseas son clasificadas dentro de la Clase Filosea Leidy, 1879. Posteriormente, Meisterfeld (2002a, b) consideró a Arcellinida como un grupo de afinidades inciertas. Estudios moleculares recientes apoyan la inclusión de diversos géneros de amebas testadas en el grupo de Amebozoa y confirman a Arcellinida como un grupo monofilético (Nikolaev et al. 2005).

Evolución

Los orígenes evolutivos de Arcellinida son inciertos. Algunos autores sugieren que Cochliopodiidae es el ancestro de Arcellinida. Se propone también que de ahí derivan los grupos Centropyxidae, Arcellidae y Microcoryciidae. Aunque la familia Arcellidae es relativamente similar, Centropyxidae forma el tronco de la mayoría de las otras familias de amebas testadas loboseas (Meisterfeld 2002a, b).

Respecto al registro fósil, hay autores como Deflandre que niegan la existencia de amebas testadas en el Paleozoico y Mesozoico; sin embargo, existen algunos reportes como el de Vasicek y Ruzicka (1957) que presentan algunas formas que asemejan testas de amebas. Por su parte, Bradley (1931) reporta al género *Diffflugia*, *Quadrula* y *Euglypha* en el Eoceno medio, mientras que Frenguelli (1933) menciona la existencia de *Tracheleuglypha* en el Mioceno superior. Para el Pleistoceno han sido

reportados los géneros *Arcella*, *Trigonopyxis*, *Hyalosphenia*, *Heleopera*, *Nebela*, *Cryptodiffugia*, *Pseudodiffugia*, *Amphitrema*, *Archerella*, *Sphenoderia*, *Trinema* y *Corythion*; para el Plioceno el género *Silicoplaentina*; para el Mioceno los géneros *Cyclopyxis* y *Tracheleuglypha*; para el Eoceno se reporta a *Diffugia*, *Pontigulasia* y *Euglypha* y para el Misisípico a *Prantlitina* (Medioli y Scott 1988). Este último género, a diferencia de los demás, no tiene representantes contemporáneos. Recientemente, Porter et al. (2003) han reportado el hallazgo de nueve especies y ocho géneros de amebas testadas, descritos por ellos, en rocas del Grupo Chuar, en el Gran Cañón (E.U.A.) correspondientes al Neoproterozoico, sugiriendo así que algunos representantes de estos taxa datan de hace aproximadamente 742 ± 6 Ma (Porter et al. 2003). Este registro es ahora el más antiguo que se conoce. Esto abre la posibilidad de utilizar a las amebas testadas en otros periodos de tiempo, pues hasta el momento las reconstrucciones se han enfocado en el Holoceno.

3. Metodología

Muestras actuales en cuerpos lacustres

Para el procesamiento de las muestras existen dos técnicas establecidas. Una técnica es utilizada para sedimentos de pantanos y turberas, realizando el conteo de organismos en el microscopio compuesto (Hendon y Charman 1997; Booth y Sullivan 2007; Booth et al. 2010). La segunda técnica es utilizada para sedimentos lacustres, y se describe a continuación (Escobar et al. 2008).

Colecta y equipo. Para el muestreo se utiliza una draga tipo Ekman, de la cual se toman submuestras, tomando solo el primer centímetro superior de sedimento. Estas muestras se fijan con formol para ser teñidas con Rosa Bengala. Si no se requiere la tinción, las muestras pueden fijarse con etanol absoluto (99%). Las muestras deben mantenerse refrigeradas (aproximadamente a 4 °C) para evitar la disolución de la materia orgánica, restos de vegetación y de otros organismos presentes en la muestra.

Procesamiento. Se mide un volumen de muestra conocido (dependiendo del objetivo de estudio, lo más común son 10 cm³) y se tamiza suavemente para evitar romper las testas. Se ocupa primero una malla de 707 µm (#25) para separar las partículas más grandes. Posteriormente se tamiza con una malla de 53 µm (#270) y se recupera la fracción superior. Cada muestra puede dividirse usando un "wet splitter" (si hay una gran abundancia de organismos), o simplemente observarse completa. Las muestras tamizadas pueden ponerse en una solución de Rosa Bengala, la cual brinda un color rosa al citoplasma, permitiendo la identificación de los ejemplares que estaban vivos en el momento de la recolecta. El tiempo de tinción puede variar entre 10 minutos y 8 horas, no habiendo un consenso de qué tiempo es el mejor. Después de la tinción las muestras se enjuagan nuevamente en agua y se pasan después a un contenedor con

etanol para su almacenamiento. Una vez extraídas las testas, se pueden mantener en tubos eppendorf con etanol y en refrigeración.

Identificación y conteo. Las muestras se observan al microscopio estereoscópico con magnificación de 50 y 80x. Para lograr una mejor identificación, es recomendable realizar Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) a algunos ejemplares, u observarlos al microscopio óptico para tener medidas y detalles de la testa que no se pueden observar al microscopio estereoscópico. En algunos casos se cuenta el volumen completo de la muestra (dependiendo de si el objetivo del estudio es ecológico), o se puede contar hasta llegar a un mínimo 300 individuos.

Muestras fósiles

Para la obtención del material fósil se extraen núcleos de sedimento, para lo cual hay diversos equipos, como el nucleador de gravedad o el de pistón tipo Livingston. Una vez que se tiene el núcleo, este se debe mantener en refrigeración. Para el análisis se toman submuestras de sedimento cada determinada profundidad, las cuales son observadas y contadas por el mismo método descrito para las muestras modernas. La resolución a la que se decida hacer el estudio dependerá de los objetivos del estudio. Otra metodología utilizada para la observación de muestras fósiles es a través de la realización de laminillas, siguiendo el procedimiento estándar que se ocupa para el polen. La desventaja de este método es que sólo las especies cuyas testas pueden tolerar los cambios de pH y la centrifugación, serán las que permanezcan en la muestra.

4. Uso de las amebas testadas como paleobioindicadores lacustres

Las reconstrucciones paleoambientales usando amebas testadas han aumentado a medida que se corrobora la utilidad de este grupo como un buen indicador biológico. A pesar de esto, los trabajos realizados en lagos son muy escasos comparados con las reconstrucciones realizadas en ambientes como pantanos y turberas.

Las variables ambientales que más controlan la presencia y abundancia de las amebas testadas en pantanos y turberas son el nivel freático y el pH (Booth, 2008; Charman y Hendon 2000; Lamentowicz et al. 2009). El nivel freático en pantanos y turberas está asociado con las condiciones climáticas de períodos secos y húmedos, permitiendo así utilizar las amebas testadas para reconstruir climas pasados. En una buena parte de los estudios paleolimnológicos, las interpretaciones ambientales se derivan de lo poco conocido de la ecología de amebas testadas, o asociando la presencia de ciertas especies a algunas condiciones ambientales inferidas por otros indicadores (McCarthy et al. 1995; Patterson et al. 2002; Reinhardt et al. 2005; Sonnenburg et al. 2013). Pocos estudios incluyen el trabajo a lo largo de muestras de calibración actuales (Scott y Medioli 1983; Patterson et al. 1985; Ellison 1995; Dallimore et al. 2000; Kumar y Patterson 2000).

Existen pocas funciones de transferencia desarrolladas para amebas testadas lacustres. Roe et al. (2010) desarrollaron una función de transferencia para el fósforo sedimentario basados en un set de calibración de 58 muestras de sedimento, provenientes de 15 lagos de la Greater Toronto Area, en Canadá. Basado en el estudio anterior, Patterson et al. (2012) desarrollaron también una función de transferencia para el fósforo sedimentario (con un set de calibración de 40 muestras de 31 lagos de la misma zona en Canadá) para finalmente aplicarla a muestras de un núcleo del Lago Haynes, Canadá. En el estudio de este núcleo se reconstruyó la historia de los niveles de fosforo desde AD 1972 (el núcleo abarca desde AD 1829), con lo cual observan el momento de la introducción de fertilizantes en parte de la cuenca de drenaje, y se observa la posterior recuperación del lago a medida que se redujo su uso.

En el Neotrópico se cuenta con muy pocos estudios paleoambientales. Un estudio fue realizado en cenotes de México (van Hengstum et al. 2008), otro estudio se realizó en un pantano de Brasil (Swindles et al. 2014), y más recientemente en un lago de la Amazonía de Perú (Patterson et al. 2015), quedando por ello en evidencia la necesidad de incrementar los estudios para conocer más acerca de la utilidad de las amebas testadas como bio y paleoindicadores en la región Neotropical.

El estudio realizado por Swindles et al. (2014) registró 21 géneros y 47 taxa de amebas testadas. Los taxones más comunes fueron *Cryptodiffugia oviformis*, *Euglypha rotunda*, *Pseudodiffugia fulva*, y *Trinema lineare*. La reconstrucción paleoambiental sugiere niveles de capas freáticas cercanas a la superficie durante los últimos 3000 años, con un cambio hacia condiciones más secas desde 1218 hasta 1273 c. cal. AD. Por otra parte, en el Lago Quistococha, Perú, Patterson et al. (2015) se encontraron con una abundancia muy baja de amebas testadas (48 ejemplares en total). El conjunto de especies que registraron es comparable con aquéllos encontrados en condiciones de estrés en latitudes templadas.

En México no se han realizado estudios ecológicos de amebas testadas en lagos. Sólo se cuenta con un estudio paleoambiental cuantitativo en los cenotes de Yucatán (van Hengstum et al. 2008). En ese trabajo se observó el cambio de las especies de amebas testadas y foraminíferos a lo largo de un gradiente de salinidad (Fig. 3). Para ello se colectaron muestras de sedimentos superficiales del Cenote Carwash, El Eden y Maya Blue. Se realizaron perfiles de salinidad, pH, oxígeno disuelto y temperatura. Por medio de un análisis de clusters, se identificaron cuatro agrupamientos, correspondientes a los distintos valores de salinidad. En el Cenote Carwash, que presenta menor salinidad, se encontraron principalmente amebas testadas, siendo *Centropyxis aculeata* la especie dominante, seguida por *Arcella vulgaris*. En lagos de latitudes templadas, la primera se considera como oportunista, mientras que la segunda se ha descrito como indicadora de estrés ambiental, relacionado con la carga de nutrientes (Reinhardt et al. 2005). En el segundo grupo se observa el cambio entre dos variedades de *Centropyxis*, en el cual, conforme aumenta

la salinidad, se incrementa la dominancia de las formas sin espinas, siendo ya completamente dominantes en el tercer grupo. En el último grupo, el más salino, se observa una mayor dominancia de los foraminíferos sobre las amebas testadas. La variedad *Centropyxis constricta* "aerophila" es la más eurihalina en el estudio, documentando la capacidad de algunas amebas testadas para sobrevivir en ambientes muy salinos. Actualmente se desarrolla otro trabajo que contribuirá al conocimiento de las especies fósiles de amebas testadas en núcleos lacustres del centro de México (Sigala et al. en preparación).

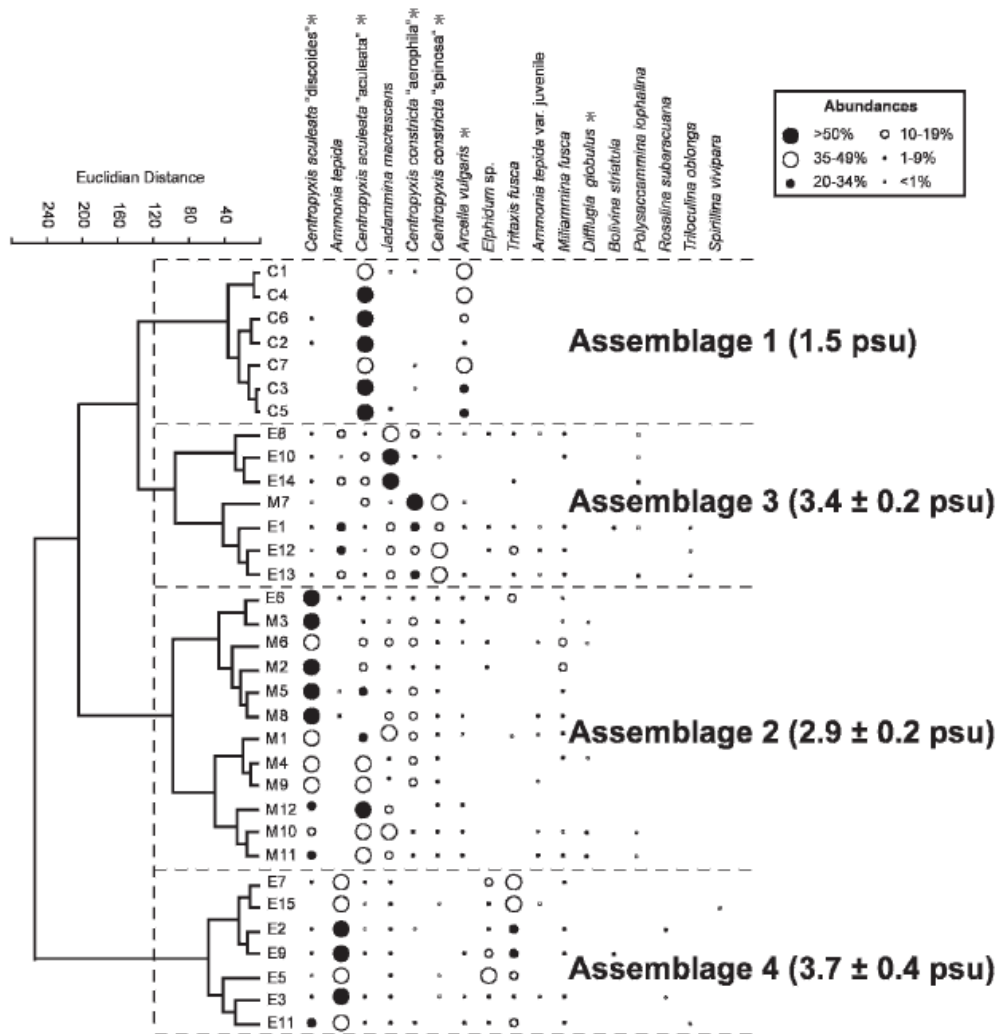


Figura 3. Dendrograma de modo-Q indicando cuatro distintas agrupaciones de amebas testadas y foraminíferos. La salinidad media se presenta en unidades prácticas de salinidad (psu, por sus siglas en inglés) para cada grupo, con una desviación estándar. Para cada especie se representa su abundancia en porcentaje con círculos de distinto tamaño y color. Las especies con un asterisco corresponden a las amebas testadas. Las letras indican el cenote de procedencia de la muestra, C= Carwash, M= Maya Blue, E= El Eden. Modificado de van Hengstum et al. 2008.

5. Perspectivas a futuro

A pesar de que los estudios de amebas testadas en lagos Neotropicales son incipientes, muestran que estas amebas tienen un gran potencial como indicadores modernos y paleoindicadores. Es por esto que las amebas testadas deben ser consideradas dentro de los grupos utilizados para reconstrucciones paleoambientales y paleoclimáticas, e incluirse también en los estudios multi-proxy, pues aportan información complementaria a la de otros organismos. Sin embargo, son necesarios más estudios enfocados a conocer la ecología de las especies en diferentes tipos de lagos Neotropicales. El estudio ecológico que actualmente se lleva a cabo en lagos del centro de México es una importante y pionera iniciativa que aportará información valiosa para el conocimiento de este grupo de protozoos en cuerpos de agua Neotropicales. Esta iniciativa debe ser replicada en otros lugares de América tropical.

6. Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas y a la Universidad Nacional Autónoma de México, por el apoyo económico brindado. A Andrés Sánchez, por la elaboración de los esquemas, a Manuel Valle, por su apoyo con la documentación bibliográfica, y a Boon Graphics, por el diseño de la lámina de especies. A Ma. del Socorro Lozano, Margarita Caballero, Alfonso Lugo, Ma. del Rosario Sánchez, Gabriela Vázquez, Eberto Novelo, Liseth Pérez y especialmente a Leonardo D. Fernández, quienes enriquecieron este trabajo con sus comentarios.

7. Referencias bibliográficas

- Alekperov I., Snegovaya N. 2000. The fauna of testate amoebae (Rhizopoda, Testacea) in freshwater basins of Apsheron peninsula. *Protistology* 1 (4): 135-147.
- Alves G.M., Velho L.F.M., de Moraes C.D., Lansac-Tôha F.A. 2012. Size structure of testate amoebae (Arcellinida and Euglyphida) in different habitats from a lake in the upper Paraná River floodplain. *Protistology* 48: 169-177.
- Archer W. 1895. Notes on some Collections made from Furnas Lake, Azores, containing Algae and a few other Organisms. *Biol. J. Linn. Soc. (Botany)* 14: 328-340.
- Azevedo F., Bonecker C.C. 2003. Community size structure of zooplanktonic assemblages in three lakes on the upper River Paraná floodplain, PR-MS, Brazil. *Hydrobiologia* 505: 147-158.
- Asioli A., Medioli F.S., Patterson R.T. 1996. Thecamoebians as a tool for reconstruction of paleoenvironments in some Italian lakes in the foothills of southern Alps (Orta, Varese and Candia). *J. Foramin. Res.* 26(3): 248-263.
- Bobrov A., Krasilnikov P., García-Calderón N.E. 2013. Biogeography of testate amoebae in the soils of Mexico. *Biodiver. Conserv.* 22: 2837-2855.
- Boltovskoy E., Lena H. 1966. Contribución al conocimiento de las tecamebas de Ushuaia (Tierra del Fuego, Argentina). *Neotropica* 12(38): 55-65.

- Boudreau R.E.A., Galloway J.M., Patterson R.T., Kumar A., Michel F.A. 2005. A paleolimnological record of Holocene climate and environmental change in the Temagami region, northeastern Ontario. *J. Paleolimnol.* 33: 445-461.
- Booth R.K., Sullivan M.E. 2007. Testate amoebae as paleohydrological proxies in peatlands. Lehigh University, Bethlehem.
- Booth R.K., Lamentowicz M., Charman D.J. 2010. Preparation and analysis of testate amoebae in peatland palaeoenvironmental studies. *Mires Peat* 7:1-7.
- Brown J.M. 1910. Freshwater Rhizopods from the English Lake District. *Biol. J. Linn. Soc. (Zoology)* 30: 360-368.
- Burbidge S.M., Schröder-Adams C.J. 1998. Thecamoebians in LakeWinnipeg: a tool for Holocene paleolimnology. *J. Paleolimnol.* 19: 309-328.
- Chardez D., Gaspar C. 1982. Biométrie et morphologie comparées des principaux Thécamoebiens des étangs du domaine des Épioux (Lacuisine-Luxembourg). *Bull. Rech. Agron. Gembloux* 17(3): 237-250.
- Charman D.J. 2001. Biostratigraphic and palaeoenvironmental applications of testate amoebae. *Quaternary Sci. Rev.*20: 1753-1764.
- Charman D.J., Gehrels W.R., Manning C., Sharma C. 2010. Reconstruction of recent sea-level change using testate amoebae. *Quaternary Res.* 73: 208-219.
- Châtelet du E.A., Guillot F., Recourt P., Ventalon S., Tribovillard N. 2010. Influence of sediment grain size and mineralogy on testate amoebae test construction. *C. R.Geoscience* 342: 710-717.
- Costa D.M., Alves G.M., VelhoL.F.M.,Lansac-Tôha F.A. 2011. Species richness of testate amoebae in different environments from the upper Paraná river floodplain (PR/MS). *Acta Sci. Biological Sciences* 33(3): 263-270.
- Dalby A.P., Kumar A., Moore J.M., Patterson R.T. 2000. Preliminary survey of Arcellaceans (Thecamoebians) as limnological indicators in tropical Lake Sentani, Irian Jaya, Indonesia. *J. Foramin. Res.* 30(2): 135-142.
- Dallimore A., Schröder-Adams C.J., Dallimore S.R. 2000. Holocene environmental history of thermokarst lakes on Richards Island, Northwest Territories, Canada: thecamoebians as paleolimnological indicators. *J. Paleolimnol.* 23: 261-283.
- Davidova R.D., Vasilev V.M. 2012. Composition and structure of testate amoebae fauna (Protozoa: Arcellinida and Euglyphida) in Durankulak Lake (Northeastern Bulgaria). *Ecol. Balk.*4 (1): 73-80.
- Delaine M., Fernández L.D., Armynot du Châtelet E., Recourt P., Potdevin J.L., Mitchell E.A.D., Bernard N. 2016. Cinderella's helping pigeons of the microbial world: the potential of testate amoebae for identifying cryptotephra. *Eur. J. Protistol.* 55(B):152-164.
- Entz G. 1878. On the rhizopoda of the Salt Lake of Szamosfalva. *Ann. Mag.Nat. Hist.* 1: 423.
- Escobar J., Martínez J.I., Parra L.N. 2005. Thecamoebians (Testaceous Rhizopods) from a tropical lake: La Fe Reservoir, Antioquia, Colombia. *Caldasia* 27(2): 293-298.
- Escobar J., Brenner M., Whitmore T.J., Kenney W.F., Curtis J.H. 2008. Ecology of testate amoebae (thecamoebians) in subtropical Florida lakes. *J. Paleolimnol.* 40: 715-731.
- Farooqui A., Kumar A., Swindles G.T. 2012. Thecamoebian communities as proxies of seasonality in Lake Sadatal in the Ganga-Yamuna Plains of North India. *Paleontol. Electron.* 15(1): 1-19.

- Fernández L.D. 2015. Source-sink dynamics shapes the spatial distribution of soil protists in an arid shrubland of northern Chile. *J. of Arid Environ.* 113: 121-125.
- Fernández L.D., Lara E. y Mitchell E.A.D. 2015. Checklist, diversity and distribution of testate amoebae in Chile. *Eur. J. Protistol.* 51: 409-424.
- Fernández L.D., Fournier B., Rivera, R., Lara E., Mitchell E.A.D. y Hernández C.E. 2016. Water–energy balance, past ecological perturbations and evolutionary constraints shape the latitudinal diversity gradient of soil testate amoebae in south-western South America. *Global Ecol. Biogeogr.* 25(10):1216–1227.
- Finlay B.J. 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061-1063.
- Golemansky V. 1967. Tecamebianos muscicolos (Rhizopoda, Testacea) de México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 28: 73-78.
- Golemansky V., Ogden C.G. 1980. Shell structure of three littoral species of testate amoebae from the Black Sea (Rhizopodea: Protozoa). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool.* 38(1): 1-6.
- Gómez S.M.S. 1980. Introducción al estudio de los Tecamebidos (Protozoa) en Asturias. *Bol. Cienc. Nat.* 25: 83-89.
- Grabandt R.A.J. 1983. Description of some taxa of testacea of humid paramo vegetation types of the Colombian Cordillera Oriental. *Rev. Acad. Colombiana Cienc. Exact. Fís. Natur.* 15(58): 31-40.
- Green J. 1975. Freshwater ecology in the Mato Grosso, Central Brazil, IV: Associations of testate Rhizopoda. *J. Nat. Hist.* 9: 545-560.
- Han B.P., Wang T., Xu L., Lin Q.Q., Dumont H.J. 2011a. Dynamics in space and time of four testate amoebae (*Diffugia* spp.) co-existing in the zooplankton of a reservoir in southern China. *Protistology* 47: 224-230.
- Han B.P., Wang T., Xu L., Lin Q.Q., Jinyu Z., Dumont H.J. 2011b. Carnivorous planktonic *Diffugia* (Protista, Amoebina Testacea) and their predators. *Protistology* 47: 214-223.
- Hegner R.W. 1918. Variation and heredity during the vegetative reproduction of *Arcella dentata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 4(9): 283-288.
- Hegner R.W. 1919. Heredity, variation, and the appearance of diversities during the vegetative reproduction of *Arcella dentata*. *Genetics* 4(2): 95-150.
- Heinis Fr. 1914. Die Moosfauna Columbiens. *Mem. Soc. Sci. Nat. Neuchatel* 5: 675-730.
- Hendon D., Charman D.J. 1997. The preparation of testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) samples from peat. *Holocene* 7(2): 199-205.
- Joblot L. 1754. Observations d'Histoire Naturelle Faites avec le Microscope, Sur un grand nombre d'insects, & Sur les animalcules qui se trouvent dans les liqueurs préparées, & Dans celles qui ne sont pas, Avec la description & les usages des différens microscopes, Partie déjà publiée par feu M. Joblot, Partie rédigée sur ses observations postérieures. 2 volumes. Briasson, Paris.
- Ju L., Yang J., Liu L., Wilkinson D.M. 2014. Diversity and distribution of freshwater testate amoebae (Protozoa) along latitudinal and trophic gradients in China. *Microb. Ecol.* 68: 657-670.
- Kihlman S.M., Kauppila T. 2009. Mine water-induced gradients in sediment metals and arcellacean assemblages in a boreal freshwater bay (Petkellahti, Finland). *J. Paleolimnol.* 42: 533-550.
- Kihlman S., Kauppila T. 2012. Effects of mining on testate amoebae in a Finnish lake. *J. Paleolimnol.* 47: 1-15.

- Kofoed C.A. 1896. A biological examination of Lake Michigan and the Traverse Bay region II. The Protozoa. Bull. Mich. Fish Comm. 6: 76-84.
- Krashevskaya V., Maraun M., Scheu S. 2010. Micro- and macroscale changes in density and diversity of testate amoebae of tropical montane rain forests of southern Ecuador. Acta Protozool. 49: 17-28.
- Kudo R. 1954. Protozoology. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, USA, 992 pp.
- Lahr D.J.G., Laughinghouse IV H.D., Oliverio A.M., Gao F., Katz L.A. 2014. How discordant morphological and molecular evolution among microorganisms can revise our notions of biodiversity on Earth. Bioessays 36: 1-10.
- Lamarck J.B. 1816. Histoire Naturelle des Animaux sans Vertèbres: Tome 2. Verdière, Paris, Francia, 568 pp.
- Lamentowicz M., Mitchell E.A.D. 2005. Testate amoebae (Protists) as palaeoenvironmental indicators in peatlands. Polish Geological Institute Special Papers, 16: 58-64.
- Lansac-Tôha F.A., Velho L.F.M., Zimmermann-Callegari M.A. y Bonecker C.C. 2000a. On the occurrence of testate amoebae (Protozoa, Rhizopoda) in Brazilian inland waters. I. Family Arcellidae. Acta Sci. 22(2): 355-363.
- Lansac-Tôha F.A., Velho L.F.M., Bonecker C.C. y Aoyagui A.S.M. 2000b. Horizontal distribution patterns of testate amoebae (Rhizopoda, Amoebozoa) in plankton samples of the Corumbá reservoir area, state of Goiás, Brazil. Acta Sci. 22(2): 347-353.
- Lee J.L., Leedale G.F., Bradbury P. (Eds.). An Illustrated Guide to the Protozoa. Vol. 1 y 2. Allen Press, Kansas, USA, 1054-1084 pp.
- Lousier J.D., Parkinson D. 1984. Annual population dynamics and production ecology of testacea (Protozoa, Rhizopoda) in an Aspen woodland soil. Soil Biol. Biochem. 16(2): 103-114.
- Macumber A.L., Patterson R.T., Roe H.M., Reinhardt E.G., Neville L.A., Swindles G.T. 2014. Autoecological approaches to resolve subjective taxonomic divisions within Arcellacea. Protist 165: 305-316.
- Maia-Barbosa P.M., Peixoto R.S., Guimarães A.S. 2008. Zooplankton in littoral waters of a tropical lake: a revisited biodiversity. Braz. J. Biol. 68(4): 1069-1078.
- Mattheussen R., Ledeganck P., Vincke S., van de Vijver B., Nijls., Beyens L. 2005. Habitat selection of aquatic testate amoebae communities on Qeqertarsuaq (Disko Island), West Greenland. Acta Protozool. 44: 253-263.
- McCarthy F., Tiffin S., Sarvis A., McAndrews J., Blasco S. 2012. Early Holocene brackish closed basin conditions in Georgian Bay, Ontario, Canada: microfossil (thecamoebian and pollen) evidence. J. Paleolimnol. 47: 429-445.
- Macumber A.L., Patterson R.T., Roe H.M., Reinhardt E.G., Neville L.A., Swindles G.T. 2014. Autoecological approaches to resolve subjective taxonomic divisions within Arcellacea. Protist 165: 305-316.
- Marcisz K., Lamentowicz Ł., Słowińska S., Słowiński M., Muszak W., Lamentowicz M. 2014. Seasonal changes in Sphagnum peatland testate amoeba communities along a hydrological gradient. Protistology 50: 445-455.
- Medioli F.S., Scott D.B. 1988. Lacustrine thecamoebians (mainly arcellaceans) as potential tools for palaeolimnological interpretations. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. 62: 361-386.
- Meisterfeld R. 2000a. Order Arcellinida. En: Lee, J.L., G.F. Leedale, P. Bradbury (Eds.), An Illustrated Guide to the Protozoa. Vol. 1 y 2. Allen Press, Kansas, USA, pp. 827-860.

- Meisterfeld R. 2000b. Testate amoebae with filopodia. En: Lee, J.L., G.F. Leedale, P. Bradbury (Eds.), An Illustrated Guide to the Protozoa. Vol. 1 y 2. Allen Press, Kansas, USA, pp. 1054-1084.
- Meyer C., Gilbert D., Gillet F., Moskura M., Franchi M., Bernard N. 2012. Using "bryophytes and their associated testate amoeba" microsystems as indicators of atmospheric pollution. *Ecol. Indic.* 13: 144-151.
- Mignot J.P., Raikov I.B. 1992. Evidence for meiosis in the testate amoeba *Arcella*. *J. Protozool.* 39(2): 287-289.
- Mitchell E.A.D., Meisterfeld R. 2005. Taxonomic confusion blurs the debate on cosmopolitanism versus local endemism of free-living protists. *Protist* 156: 263-267.
- Mitchell E.A.D., Payne R.J., van der Knaap W.O., Lamentowicz L., Gąbka M., Lamentowicz M. 2013. The performance of single- and multi-proxy transfer functions (testate amoebae, bryophytes, vascular plants) for reconstructing mire surface wetness and pH. *Quaternary Res.* 79: 6-13.
- Naidu K.V. 1966. Some Thecamoebae (Rhizopoda: Protozoa) from India. *Hydrobiologia* 27(3-4): 465-478.
- Neville L.A., McCarthy F.M.G., MacKinnon, M.D. 2010a. Seasonal environmental and chemical impact on thecamoebian community composition in an oil sands reclamation wetland in northern Alberta. *Paleontol. Electron.* 13(1): 1-14.
- Neville L.A., Christie D.G., McCarthy F.M.G., MacKinnon M.D. 2010b. Biogeographic variation in Thecamoebian (Testate amoeba) assemblages in lakes within various vegetation zones of Alberta, Canada. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 2(8): 215-224.
- Nikolaev S.I., Mitchell E.A.D., Petrov N.B., Berney C., Fahrni J., Pawlowski J. 2005. The testate lobose amoebae (Order Arcellinida Kent, 1880) finally find their home within Amoebozoa. *Protist* 156: 191-202.
- Ogden C.G. 1981. Observations of clonal cultures of Euglyphidae (Rhizopoda, Protozoa). *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool.* 41(4): 137-151.
- Ogden C.G. 1984. Notes on testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) from Lake Vlasina, Yugoslavia. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. Zool.* 47(5): 241-263.
- Ogden C.G., Hedley R.H. 1980. An Atlas of Freshwater Testate Amoebae. Oxford University Press, Hampshire, Inglaterra, 222 pp.
- Ogden C.G., Coûteaux M.M. 1989. Interstitial marine Rhizopods (Protozoa) from littoral sands on the east coast of England. *Protistology* 24: 281-290.
- Oliveira de M.T., Lopes H.E. 2010. Study of testacean assemblages (Protozoa: Rhizopoda) in touristic waterfall regions of Chapada dos Guimarães National Park, Mato Grosso State, Brazil. *Acta Sci. Biological Sciences* 32(4): 387-395.
- Oliverio A.M., Lahr D.J.G., Nguyen T., Katz L.A. 2014. Cryptic diversity within morphospecies of testate amoebae (Amoebozoa: Arcellinida) in New England bogs and fens. *Protist* 165: 196-207.
- Patterson R.T., Kumar A. 2000. Assessment of arcellacean (Thecamoebian) assemblages, species, and strains as contaminant indicators in James Lake, Northeastern Ontario, Canada. *J. Foramin. Res.* 30(4): 310-320.
- Patterson R.T., Mackinnon K.D., Scott D.B., Medioli F.S. 1985. Arcellaceans ("Thecamoebians") in small lakes of New Brunswick and Nova Scotia: Modern distribution and Holocene stratigraphic changes. *J. Foramin. Res.* 15(2): 114-137.

- Patterson R.T., Barker T., Burbidge S.M. 1996. Arcellaceans (Thecamoebians) as proxies of arsenic and mercury contamination in northeastern Ontario lakes. *J. Foramin. Res.* 26(2): 172-183.
- Patterson R.T., Lamoureux E.D.R., Neville L.A., Macumber A.L. 2013. Arcellacea (Testate lobose amoebae) as pH indicators in a pyrite mine-acidified lake, Northeastern Ontario, Canada. *Microb. Ecol.* 65(3): 541-554.
- Patterson R.T., Huckerby G., Kelly T.J., Swindles G.T., Nasser N.A. 2015. Hydroecology of Amazonian lacustrine Arcellinida (testate amoebae): A case study from Lake Quistococha, Peru. *Eur. J. Protistol.* 51: 460-469.
- Payne, R.J. 2013. Seven reasons why protists make useful bioindicators. *Acta Protozool.* 52: 105-113.
- Porter S.M., Meisterfeld R., Knoll A.H. 2003. Vase-shaped microfossils from the Neoproterozoic Chuar Group, Grand Canyon: A classification guided by modern testate amoebae. *Journal Paleontol.* 77(3): 409-429.
- Qin Y., Mitchell E.A.D., Lamentowicz M., Payne R.J., Lara E., Gu Y., Huang X., Wang H. 2013. Ecology of testate amoebae in peatlands of central China and development of a transfer function for paleohydrological reconstruction. *J. Paleolimnol.* 50: 319-330.
- Reinhardt E.G., Dalby A.P., Kumar A., Patterson R.T. 1998. Arcellaceans as pollution indicators in mine tailing contaminated lakes near Cobalt, Ontario, Canada. *The Micropaleontology Project, Inc.*, 44(2): 131-148.
- Reinhardt E.G., Little M., Donato S., Findlay D., Krueger A., Clark C. y Boyce J. 2005. Arcellacean (thecamoebian) evidence of land-use change and eutrophication in Frenchman's Bay, Pickering, Ontario. *Environ. Geol.* 47: 729-739.
- Roe H.M., Patterson R.T. 2006. Distribution of thecamoebians (Testate amoebae) in small lakes and ponds, Barbados, West Indies. *J. Foramin. Res.* 36(2): 116-134.
- Roe H.M., Patterson R.T. 2014. Arcellacea (Testate amoebae) as bio-indicators of road salt contamination in lakes. *Microb. Ecol.* 68(2): 299-313.
- Roe H.M., Patterson R.T., Swindles G.T. 2010. Controls on the contemporary distribution of lake thecamoebians (testate amoebae) within the Greater Toronto Area and their potential as water quality indicators. *J. Paleolimnol.* 43(4): 955-975.
- Santibáñez A.P.A., Kohshima S., Scheihing A.R.A., Silva R.R., Jaramillo M.J.I., Labarca P.P.J. y Casassa R.G. 2011. First record of testate amoebae on glaciers and description of a new species *Puytoracia jenswendti* nov. sp. (Rhizaria, Euglyphida). *Acta Protozool.* 50: 1-14.
- Schönborn W. 1965. Die sedimentbewohnenden Testaceen einiger Masurischer Seen. *Acta Protozool.* 3(27): 297-309.
- Schönborn W. 1984. Studies on remains of Testacea in cores of the Great Woryty Lake (N.E. Poland) *Limnologica* 16: 185-190.
- Smith H.G. 1987. A species-poor testate rhizopod fauna on Brabant Island. *Brit. Antarct. Surv. B.* 77: 173-176.
- Smith H.G., Wilkinson D.M. 2007. Not all free-living microorganisms have cosmopolitan distributions –the case of *Nebela (Apodera) vas Certes* (Protozoa: Amoebozoa: Arcellinida). *J. Biogeogr.* 34: 1822-1831.
- Smith H.G., Bobrov A., Lara E. 2008. Diversity and biogeography of testate amoebae. *Biodivers. and Conserv.* 17: 329-343.
- Swindles G.T., Reczuga M., Lamentowicz M., Raby C.L., Turner T.E., Charman D.J., Gallego-Sala A., Valderrama E., Williams C., Draper F., Honorio Coronado E.N.,

- Roucoux K.H., Baker T., Mullan D.J. 2014. Ecology of Testate Amoebae in an Amazonian Peatland and Development of a Transfer Function for Palaeohydrological Reconstruction. *Microb. Ecol.* 68: 284-298.
- Tekle Y.I., Grant J., Anderson O.R., Nerad T.A., Cole J.C., Patterson D.J., Katz L.A. 2008. Phylogenetic placement of diverse amoebae inferred from multigene analyses and assessment of clade stability within 'Amoebozoa' upon removal of varying rate classes of SSU-rDNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 47: 339-352.
- Todorov M., Golemansky V. 2014. Soil testate amoebae (Amoebozoa, Rhizaria) of a tropical rainforest in Madagascar. *Acta Zool. Bulg.* 66(4): 469-476.
- Todorov M., Golemansky V., Mitchell E.A.D., Heger T.J. 2009. Morphology, Biometry, and Taxonomy of Freshwater and Marine Interstitial Cyphoderia (Cercozoa: Euglyphida). *J. Eukaryot. Microbiol.* 56(3): 279-289.
- Torigai K., Schröder-Adams C.J., Burbidge S.M. 2000. A variable lacustrine environment in Lake Winnipeg, Manitoba: Evidence from modern thecamoebian distribution. *J. Paleolimnol.* 23: 305-318.
- van Bellen S., Mauquoy D., Payne R.J., Roland T.P., Daley T.J., Hughes P.D.M., Loader N.J., Street-Perrott F.A., Rice E.M. y Pancotto V.A. 2014. Testate amoebae as a proxy for reconstructing Holocene water table dynamics in southern Patagonian peat bogs. *J. Quat. Sci.* 29(5): 463-474.
- Van Hengstum P.J., Reinhardt E.G., Beddows P.A., Huang R.J., Gabriel J.J. 2008. Thecamoebians (Testate amoebae) and foraminifera from three anchialine cenotes in Mexico: low salinity (1.5-4.5 psu) faunal transitions. *J. Foramin. Res.* 38(4): 305-317.
- Velho L.F.M., Alves G.M., Lansac-Tôha F.A., Bonecker C.C. y Pereira D.G. 2004. Testate amoebae abundance in plankton samples from Paraná State reservoirs. *Acta Sci. Biol. Sci.* 26(4): 415-419.
- Wilkinson D.M. 2008. Testate amoebae and nutrient cycling: peering into the black box of soil ecology. *Trends Ecol. Evol.* 23(11): 596-599.
- Yang J., Zhang W., Feng W., Shen Y. 2006. Geographical distribution of testate amoebae in Tibet and northwestern Yunnan and their relationships with climate. *Hydrobiologia* 559: 297-304.
- Yang J., Smith H.G., Sherratt T.N., Wilkinson D.M. 2010. Is there a size limit for cosmopolitan distribution in free-living microorganisms? A biogeographical analysis of testate amoebae from polar areas. *Microb. Ecol.* 59: 635-645.
- Yeates G.W., Foissner W. 1995. Testate amoebae as predators of nematodes. *Biol. And Fert. Soils* 20: 1-7.
- Zapata M.J. 2006. Estado de conocimiento de los tecamebianos dulceacuícolas de Chile. *Gayana* 70(1): 27-30.

Indicadores vegetales

Capítulo 3: Polen

Ma. Socorro Lozano-García Laboratorio de Paleoeología y Palinología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, mslozano@unan.mx

Marcela Sandra Tonello Laboratorio de Paleoeología y Palinología, IIMyC UNMdP – CONICET, Argentina, mtonello@mdp.edu.ar

Silvina Stutz Laboratorio de Paleoeología y Palinología, IIMyC UNMdP – CONICET, Argentina, smstutz@mdp.edu.ar

Palabras clave: Paleoeología, Paleolimnología, Cuaternario, Latinoamérica y Caribe.

1. Introducción

El estudio de los granos de polen y esporas o análisis palinológico, es un método ampliamente utilizado para reconstruir la historia de las comunidades de plantas terrestres y acuáticas y sus respuestas al cambio ambiental durante el Cuaternario (últimos 2 millones de años). Los granos de polen y las esporas se depositan en el fondo de los lagos, entre otros ambientes sedimentarios, y registran la variación en la composición de las comunidades vegetales pasadas y los cambios ambientales que han ocurrido. Sobre la base del análisis de estos micro-restos en las secuencias lacustres se reconstruye la variabilidad climática del pasado. Los granos de polen de angiospermas y gimnospermas así como las esporas de helechos, musgos y hepáticas representan la flora terrestre y constituyen el tema de estudio de la Palinología, aunque en esta disciplina se analizan también restos algales provenientes generalmente de clorofíceas y cianobacterias, que forman parte del grupo de los palinomorfos no polínicos (PNPs). Entre las razones por las que se engloban estos restos de plantas en dicha disciplina, es que comparten ciertas características. Tienen en común el tamaño (5 a 500 micras), la composición química, así como los mecanismos de dispersión, a pesar de que los procesos reproductivos de estos grupos de plantas son distintos. Estos micro-restos se pueden dividir de acuerdo a su origen en endógenos, que provienen del lago y exógenos, que provienen de fuera del lago. La palinología es una disciplina que tiene más de 100 años, y durante este lapso numerosos trabajos y libros han sido publicados, enfocados tanto en cuestiones metodológicas como teóricas (Erdtman 1952; Faegri e Iversen 1989; Kapp 1969; Seppä 2013; Traverse 2008).

En este capítulo se presentan generalidades del análisis polínico (desde el origen del grano de polen a la reconstrucción de la vegetación en el pasado), con énfasis en la metodología relacionada con la obtención de muestras polínicas y su procesamiento para la extracción de palinomorfos. Se describen los antecedentes más

importantes para Latinoamérica y el Caribe, y se presentan ejemplos en los cuales el polen es utilizado en reconstrucciones paleoambientales y paleoclimáticas.

2. Biología

Origen de los palinomorfos

Durante su reproducción las plantas, transitan por dos generaciones, una denominada esporofítica (diploide) y otra gametofítica (haploide). Para las plantas vasculares con y sin semilla, la generación esporofítica es la de mayor tamaño mientras que la gametofítica se reduce a unas cuantas células que realizan las funciones masculinas y femeninas. Los granos de polen constituyen el microgametofito de las plantas con semilla y contienen la mitad del genoma parental. En esencia el polen es el vehículo por el cual el código genético masculino se transfiere al gameto femenino. El proceso de desarrollo del polen inicia en los sacos polínicos (microesporangios), cuando llegan a la madurez los granos de polen son liberados y llegan al estigma, en el caso de las angiospermas y a la micrópila del óvulo, en el caso de las gimnospermas, a través de diferentes agentes de polinización como insectos, aves, agua, aire, etc. En general, las plantas producen una gran cantidad de polen, pero solo algunos llevarán la información genética al óvulo. La mayor parte de los granos de polen liberados se depositan en distintos ambientes. Las esporas son producidas en los esporangios de las plantas no vasculares, como las briofitas y las pteridofitas. En su mayoría poseen dispersión anemófila, aunque algunos helechos acuáticos dispersan sus esporas por el agua (Traverse 2008).

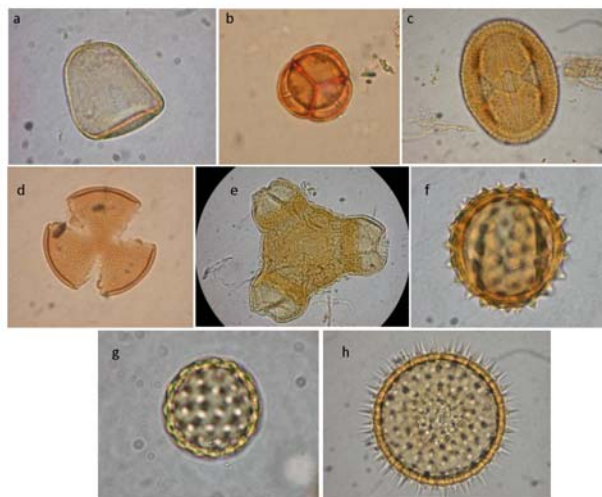


Figura 1. Representantes de algunos tipos morfológicos de granos de polen. a. inaperturado, *Cyperus*; b. tétrada, *Empetrum*; c. tricolporado microequinado, Asteraceae tipo Mutisiae; d. tricolporado, Cactaceae; e. triporado, Onagraceae; f. tricolporado equinado, Asteraceae tipo *Senecio*; g. periporado, Amaranthaceae; h. periporado equinado, Malvaceae tipo *Malva*.

Mecanismos de dispersión

Las plantas con flores producen polen que se dispersa a través de la atmósfera mezclándose para posteriormente depositarse en diferentes ambientes tales como suelos, lagos, pantanos, océanos. Algunas de estas plantas anemófilas (el polen es dispersado por el viento) pueden producir hasta 10,000 granos de polen por antera; otras son entomófilas, su dispersión depende de algún tipo de insecto, generalmente producen menos polen y tienen baja representación en el registro fósil. No todas las plantas con flores liberan sus granos de polen; hay grupos de plantas como las autógamas que no los liberan a la atmósfera, por lo que no se encuentran representadas en los ambientes de depósito. Esta selección con base en los mecanismos de polinización conlleva a una representación diferencial del polen y esporas en los sedimentos lacustres (Traverse 2008).

Preservación

La pared de los granos de polen consiste de dos capas, una interior (intina) compuesta por celulosa y otra externa (exina) formada por esporopolenina. La primera se degrada durante el proceso de fosilización mientras que la exina se preserva. La esporopolenina es un biopolímero extremadamente resistente a la degradación química y física, excepto a la oxidación, y constituye el principal componente de la pared externa o exina del polen y esporas. La composición química de este biopolímero no está aún bien establecida; se sabe que contiene ácidos grasos, fenoles, carotenoides y fenilpropanos. Este biopolímero es un compuesto muy antiguo, presente en las esporas de las primeras plantas terrestres lo que posiblemente contribuyó en el proceso de la conquista de la tierra protegiendo a las esporas de la luz ultravioleta, la desecación y del ataque de microorganismos (Books y Shaw 1998; Fraser et al. 2012; Rubinstein et al. 2010).

Los mejores ambientes para la preservación de la pared de los granos de polen y esporas son los que tienen condiciones ácidas, anóxicas y con temperaturas y humedad constantes como son el fondo de los lagos. Sin embargo, es posible encontrarlos en sedimentos marinos, turberas, nidos de ratones y cuevas, entre otros. En el caso de las clorofíceas y cianobacterias se preservan colonias, cenobios, heterocistes, acinetos y esporas de resistencia (Traverse 2008).

Morfología

Los granos de polen y las esporas son estructuras tridimensionales complejas con formas y morfologías distintivas adaptadas a la polinización. La exina que generalmente está ornamentada, no cubre toda la estructura pues no se desarrolla en las aberturas que corresponden a las zonas germinales. Las aberturas constituyen caracteres morfológicos importantes, tienen formas circulares (poros) o elípticas alargadas (sulcos,

colpos) y se presentan solas o combinadas, variando en número y posición. Esta diversidad morfológica permite su identificación. La variedad morfológica de la exina es muy amplia por lo que se han elaborado glosarios para describir los rasgos morfológicos unificando la nomenclatura que se emplea en la descripción (Faegri e Iversen 1989; Moore et al. 1991; Punt et al. 1994). Se han desarrollado bases de datos polínicos (por ej.: <https://www.paldat.org>, <http://www.geo-arizona.edu/palynology/polonweb.html>) y palinofloras ilustradas con fotografías para varias regiones del mundo, en particular en las regiones neotropicales: Markgraf y D'Antoni (1978) para Argentina, Heusser (1971) para Chile, Salgado-Labouriau (1973) y Colinvaux et al. (1999) para Brasil, Palacios-Chávez et al. (1991), Sánchez-Dzib et al. (2009) para México, y para Panamá, Roubik y Moreno (1991).

En las últimas décadas el estudio de los palinomorfos no polínicos (PNPs) como son esporas de resistencia, cenobios, colonias y otros restos de algas clorofitas, cianobacterias y hasta de macrófitas, ha tomado cierta relevancia y han empezado a publicarse algunos trabajos que son utilizados como guías para su identificación (van Geel 1978, 2001 y bibliografía allí citada).

3. Metodología

Técnicas paleoambientales

Muestreo en el campo: La obtención de un registro lacustre es uno de los pasos más críticos en cualquier estudio paleolimnológico, ya que los errores cometidos durante el muestreo raramente pueden ser corregidos *a posteriori* (Glew et al. 2001). Es necesario, no solo tener habilidades y familiaridad con el equipo sino también conocer el sitio de muestreo, profundidad de la columna de agua, características del sedimento, etc. Existe una gran diversidad de muestreadores utilizados en paleolimnología, muchos de ellos provenientes de otras disciplinas, y continuamente se están generando innovaciones y modificaciones de equipos ya existentes, muchas de ellas relacionadas con cuestiones operativas. En el caso de muestreo actual en lagos el muestreador más utilizado es el tipo *Gravity-corer* que consiste en un tubo abierto en el extremo inferior y con una válvula en el extremo superior. El muestreador ingresa verticalmente en el sedimento, la válvula se cierra y el sedimento queda retenido dentro del tubo. Antes de extraer el muestreador del agua es necesario colocar un tapón en la base del tubo para evitar la pérdida del sedimento. Este muestreador permite no sólo obtener la interfase agua-sedimento o la muestra superficial (0–1, 1–2 cm) sin ser disturbada, sino también registros sedimentarios cortos cuya longitud dependerá de las características físicas del sustrato lacustre. El submuestreo de las muestras se realiza en el campo, cada 1 o 0.5 cm. Entre los muestreadores utilizados para obtener registros sedimentarios fósiles, los más utilizados son los muestreadores a base de pistón, de percusión, o de vibración. Uno de los ejemplos de muestreador de pistón es el tipo *Livingstone*. Este muestreador consta básicamente de un tubo con un pistón movable sujeto por un cable, y de una

cabeza y barras o varillas que permiten manejar el muestreador a la profundidad deseada. El sedimento es recuperado del muestreador en el campo, permitiendo extraer tramos consecutivos, y en tales casos es frecuente la utilización de un entubado (*casing*) por donde ingresa el muestreador. En casos donde el sedimento ofrece resistencia física (por ejemplo por la presencia de arcillas o lentes compactas de arena) pueden utilizarse muestreadores de percusión como el tipo *Hammer-corer* o muestreadores que perforan mediante vibración como el tipo *Vibra-corer*. En ambos casos, el sedimento queda retenido en un tubo (de plástico, acrílico, aluminio, etc.) y se recupera en el laboratorio. Tanto los muestreadores con pistón como los de percusión y vibración, pueden utilizarse de pie en lagos someros, o desde un bote o utilizando una plataforma estable. En Glew et al. (2001) se presenta una descripción muy detallada de las diferentes técnicas de muestreo, muestreadores y recuperación de sedimentos. La selección del sitio de muestreo tanto para un análisis actual como fósil estará en función del objetivo de estudio y, consecuentemente de la escala espacial y temporal que se desee analizar. En estudios de vegetación a escala local se deben seleccionar lagos con un radio no mayor a 50 m, mientras que para estudios de vegetación a escala regional deberían utilizarse lagos con un radio de 250 m o más. En todos los casos, el punto de muestreo debe coincidir con la parte central de la cuenca. Estas sugerencias se basan en el área fuente relevante de polen (RSAP en inglés) un concepto central de los modelos de dispersión y depositación de Prentice (1988) y Sugita (1993).

Extracción de polen y esporas (palinomorfos) del sedimento: El proceso de extracción de polen y esporas de los sedimentos fue desarrollado durante la primera mitad del siglo XX. Esta técnica también concentra partículas de carbón vegetal y palinomorfos no polínicos (PNPs), componentes que también se pueden cuantificar cuando se efectúa el recuento de los palinomorfos. El protocolo que se describe a continuación es el que se emplea en el Laboratorio de Paleoecología y Palinología, FCEyN, Universidad Nacional de Mar del Plata y comprende las técnicas descritas en Gray (1965), Faegri e Iversen (1989) y Moore et al. (1991). Los procedimientos son estándar, aunque se aplican algunas modificaciones de acuerdo al sedimento que se quiera procesar. Para un mayor detalle de las reacciones en cada uno de los pasos, se puede consultar Gray (1965). Este procedimiento de extracción es adecuado tanto para muestras actuales como fósiles. Durante el procedimiento de extracción de palinomorfos del sedimento se emplean una serie de álcalis y ácidos fuertes. Por lo tanto el extremo cuidado es muy importante, desde el equipamiento a utilizar, como así también la conducta dentro del laboratorio. Todos los pasos se deben realizar bajo campana de extracción de gases (tener en cuenta para la elección de la campana el tipo de vapores que se eliminarán en el proceso). La persona debe estar siempre protegida, el uso de guantes de látex y/o de nitrilo es indispensable, como así también el resto de la vestimenta: máscaras nasobucales para gases, antiparras y/o anteojos de acrílico, guardapolvo de mangas largas y calzado cerrado. Los pasos de filtrado y lavado con agua destilada pueden realizarse fuera de la campana, una vez que todo el residuo de álcali o ácido ha sido eliminado.

Submuestreo: Las muestras pueden ser consideradas por peso y/o por volumen. La cantidad de material depende del tipo de sedimento, mayor cantidad para sedimentos arenosos y menor para sedimentos muy orgánicos, por ejemplo. Para calcular el volumen se puede emplear un muestreador volumétrico o calcularlo por desplazamiento de agua (sedimento seco o húmedo).

Tratamiento físico-químico:

1. Marcador exótico y filtrado: El marcador exótico es una variable que permite calcular la concentración (granos/gr – cm³) y/o el influjo (granos/gr – cm² / unidad de tiempo), como así también controlar la posible pérdida de palinomorfos durante el procesamiento. Luego del submuestreo se agrega a cada muestra una cantidad conocida de marcador exótico. Se emplean pastillas de *Lycopodium clavatum*, que poseen una media de esporas conocida por pastilla (Stockmarr 1971), o también soluciones de, por ejemplo, *Fagus* sp. o *Eucalyptus* sp., de concentración conocida. El sedimento y el marcador exótico se diluyen con agua destilada y/o HCl al 10%. Las muestras son filtradas con mallas de 250 – 120µm. El tamaño de la malla depende de lo que se quiera recuperar. Por ejemplo en el caso de querer retener másulas de microsporas de *Azolla filiculoides*, es conveniente utilizar una de 250µ. Luego del filtrado las muestras se concentran en tubos de 50ml, centrifugando a 2500rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se descarta. Cada tubo debe ser correctamente rotulado y se debe anotar en la libreta de laboratorio toda la información pertinente: peso y/o volumen, cantidad y tipo de marcador agregado, tipo de sedimento, etc. En todos los pasos de la técnica, luego de agregar cada solución, las muestras son centrifugadas a 2500rpm durante 5 minutos, excepto en la separación con líquidos pesados que se centrifuga por 25 minutos.
2. Tratamiento con álcalis. Hidróxido de Potasio (KOH): El agregado KOH 10% remueve los ácidos húmicos (coloides insaturados del suelo orgánico) y desagrega las arcillas. Se agrega a cada tubo KOH 10% y se colocan en baño térmico a 100°C por 10 minutos, se revuelve todo el tiempo las muestras con espátula. Luego se lava con agua destilada caliente y fría hasta que el sobrenadante resulte limpio. En caso de sedimento muy arcilloso se puede emplear pirofosfato de sodio (Na₄P₂O₇), que es un defloculante de arcillas más fuerte. Se utiliza en concentración de 5 o 10%. Se procede de igual manera que con el KOH.
3. Tratamiento con ácidos. Ácido Clorhídrico (HCl): Este paso remueve carbonatos. Los productos de la reacción son hidróxido de calcio y dióxido de carbono (CO₂) que se libera a veces vigorosamente. Se agrega a cada tubo HCl puro o al 10% frío (depende de la cantidad de carbonatos presentes en el sedimento). Si la reacción lo permite se mezcla con espátula hasta que la reacción cese. Se debe tener cuidado con la liberación de CO₂, el burbujeo se detiene con unas gotas de alcohol. Se lava con agua destilada fría entre 5 y 10 veces. El último lavado se realiza con HCl 10% y los tubos en la balanza se equilibran y las espátulas se lavan con el mismo ácido diluido, ya que el próximo paso requiere que las

- muestran estén deshidratadas. Los tubos se dejan boca abajo toda la noche (12 horas).
4. Separación por gravedad de la fracción mineral. Tratamiento con líquidos pesados. Cloruro de zinc ($ZnCl_2$): Con un líquido pesado ($ZnCl_2$) se separa el material mineral del contenido orgánico del sedimento. Es importante en este paso lograr la densidad adecuada para tal separación, ésta debe ser mayor que la de las partículas orgánicas, incluidos los palinomorfos y menor que la de la fracción mineral; generalmente suele ser $1.95 - 1.98 \text{ gr/cm}^3$. Se coloca $ZnCl_2$ a cada tubo y se agita enérgicamente para que todo el sedimento se mezcle con la solución (puede utilizarse un vórtex). Se equilibran los tubos con gotas de $ZnCl_2$, en ningún caso utilizar agua. Luego de centrifugar se deben obtener dos fases bien definidas la mineral y más pesada en la base y la orgánica y más liviana en el tope, separadas por la solución de $ZnCl_2$. Se recupera el sobrenadante y se traspasa a otros tubos a los que se les agregan unas gotas de HCl 10%. Para recuperar la porción orgánica se le debe bajar la densidad de a poco al sobrenadante con sucesivos agregados de agua destilada. Se van trasvasando a tubos de 15 ml pequeñas cantidades (2 – 4ml) del sobrenadante y se completa con agua. La operación se repite hasta agotar el material recuperado. Antes de descartar la fracción mineral esta debe ser chequeada al microscopio para confirmar que no han quedado palinomorfos. En caso contrario, se repite el procedimiento. En casos de muestras de volúmenes muy pequeños (1 o 2 cm^3) o de sedimentos muy orgánicos, por ej. turba, este paso puede obviarse. También se utiliza para la separación por gravedad otros líquidos como metatungstato de litio y/o politungstato de sodio.
 5. Tratamiento con ácidos fuertes. Ácido fluorhídrico (HF): El agregado de HF puro elimina la sílice y los silicatos que quedaron en el sobrenadante orgánico. Se debe previamente acidificar la muestra con un lavado con HCl puro y frío, que evita la precipitación del HF con algunos minerales. Se agrega a cada tubo 5 ml de HF, se revuelve con espátula y se deja que actúe en frío durante 12 horas, bajo campana y con los tubos tapados; o se puede acelerar la reacción en baño térmico a 100°C durante 10 minutos. No deben dejarse las espátulas en los tubos en ninguno de los casos. Se lavan las muestras con HCl puro caliente y luego con agua destilada (2 – 3 lavados).
 6. Eliminación de la celulosa. Acetólisis: Este paso hidroliza los polisacáridos en monosacáridos solubles en agua que se eliminan con posteriores lavados. La técnica es la propuesta por Erdtman (1952). Se prepara la mezcla acetolítica: 9 partes de anhídrido acético y 1 parte de ácido sulfúrico (se agrega el ácido al anhídrido). La mezcla se debe preparar inmediatamente antes de utilizarla. Las muestras se deshidratan previamente con ácido acético glacial, ya que la mezcla al contacto con el agua es explosiva. Se le agregan a cada tubo 5 ml de mezcla, se revuelve con espátula y se lleva al baño térmico durante 3 – 5 minutos, de acuerdo a la cantidad de material. Las espátulas se lavan con ácido acético y los tubos se equilibran también con gotas de ácido acético. Se lava primero con ácido acético y luego con agua caliente entre 5 y 10 veces.

7. Concentración del residuo: Los residuos se concentran en tubos tipo Kahan de 5ml o también puede ser en tubos tipo Eppendorf adecuadamente etiquetados. Tanto los palinomorfos polínicos (granos de polen y esporas) como los no polínicos pueden ser teñidos para incrementar el contraste de sus elementos esculturales. Se pueden utilizar varios tipos de tinciones (safranina, fucsina básica). Los residuos se guardan con dos o tres gotas de glicerina líquida fenicada (el agregado de algunos cristales de fenol evita la proliferación de hongos) o en aceite siliconado ("silicon oil"). Para esto último la muestra debe ser previamente deshidratada con alcohol terbutílico.

Identificación y recuento: Para efectuar el recuento al microscopio óptico de las muestras, se montan dos o tres gotas del residuo en un portaobjetos con glicerina fenicada o con aceite siliconado (según se haya guardado el residuo). El recuento se realiza con un aumento final de 400 y/o 1000x. La identificación de granos de polen y de esporas se realiza mediante la aplicación de claves y atlas publicados y de la comparación con material de colecciones de referencia (ver: Boletín de la Asociación Latinoamericana de Paleobotánica y Palinología N°13 (2009) y N°14 (2014)). Lo aconsejado es contar con una colección de tipos polínicos y esporas que posean una referencia a un herbario institucional. Una práctica muy común es construir la propia colección de referencia, con material fresco de la vegetación del área de estudio en particular. La identificación de los granos de polen y de las esporas se realiza sobre la base de los caracteres morfológicos (número y ubicación de las aperturas y escultura de la pared). La precisión en la identificación varía desde el nivel taxonómico de familia (ej. Poaceae, Amaranthaceae) hasta especie. Este último puede lograrse con una buena colección de referencia del área de estudio en cuestión. En general el nivel taxonómico de identificación es el género.

Suma polínica: Para obtener una suma polínica representativa es importante que la comunidad vegetal esté representada de la manera más fidedigna. Esto se facilita en el caso de los recuentos de muestras actuales, ya que es posible tener un registro cualitativo y/o cuantitativo de la comunidad vegetal actual, productora del espectro polínico. En el caso de sumas polínicas de muestras fósiles existen algunos criterios establecidos como es la suma polínica de 300 granos (muy aplicada en los estudios del Hemisferio Norte), o la técnica del "área mínima" (la que se aplica a los censos de vegetación) adaptada al recuento polínico por Bianchi y D'Antoni (1986). Un aspecto a tener en cuenta son los tipos polínicos "incluidos" y "excluidos" de la suma polínica, lo cual depende de la comunidad vegetal que se quiera representar. Por ejemplo, en estudios de escala regional, generalmente los tipos polínicos de plantas acuáticas, así como las esporas de pteridofitas y de briofitas, son excluidos de la suma polínica a partir de la que se calculan los porcentajes.

Presentación de los resultados y análisis de los datos: Los resultados de los recuentos polínicos generalmente se representan en diagramas de porcentaje y también de

concentración (menos común). Los porcentajes de cada tipo polínico se calculan sobre la base de la suma polínica; y los de tipos polínicos excluidos sobre la base de la suma polínica más la suma de los tipos polínicos excluidos. Existen varios programas para graficar datos polínicos, por ejemplo TILIA 1.7.16 (Grimm 2013), Psimpoll 4.27 (Bennet 2009), C2 (Juggins 2011) y el paquete estadístico Rioja de R (Juggins 2012). Una investigación paleolimnológica, que incluye el análisis polínico, consta de diferentes pasos: colección, evaluación, análisis e interpretación de los datos. En cada uno de estos pasos se pueden aplicar o no técnicas numéricas. Una revisión de los análisis numéricos utilizados es presentada en diferentes capítulos del *Data Handling and Numerical Techniques* (Birks et al. 2012). Una de las características sobresalientes del análisis polínico es la abundancia de datos, lo que permite aplicar las diversas técnicas de análisis multivariado. En los estudios de polen actual es indispensable contar con información de la vegetación, cuali o cuantitativa. Conocer la relación actual polen-vegetación, así como las características autoecológicas, permite además, una interpretación más certera de los registros polínicos fósiles ya que en la mayoría de los casos, los registros no reflejan exactamente la abundancia de la vegetación porque algunos taxones (o tipos polínicos) pueden estar sobrerrepresentados o subrepresentados. En muchos estudios polínicos también se incluyen datos climáticos o bioclimáticos (temperatura, precipitación, altura sobre el nivel del mar, cantidad de horas de luz, etc.) lo que permite aplicar técnicas de calibración y regresión. En líneas generales, los análisis numéricos aplicados a datos palinológicos permiten entre otros, estimar la riqueza polínica, detectar cambios en la vegetación, cuantificar tasas de cambio, establecer patrones temporales, y reconstruir cuantitativamente la vegetación y el clima del pasado. La zonación es utilizada tanto en estudios de polen actual como fósil y permite establecer zonas polínicas, que son entidades espaciales o temporales compuestas por una serie de muestras de composición polínica relativamente uniforme. Existen diferentes técnicas de zonación que se basan en métodos binarios, óptimos o de agrupamiento. El número de zonas dependerá de la calidad de los datos (número de muestras y número de tipos polínicos), del método de zonación elegido y de la transformación o no de los datos. En todos los casos, la intención es obtener la menor unidad estadísticamente significativa (reducción de la varianza), y que dichas unidades reflejen la estructura real de los datos y no el posible ruido (Seppä y Bennet 2003). Entre las técnicas multivariadas las más utilizadas son las de ordenación como el Análisis de Componentes Principales, Análisis de Correspondencia Destendenciado, Análisis Canónico, etc., que permiten resumir las tendencias espaciales o temporales de varias muestras polínicas. Detalles de estas técnicas y su aplicación pueden consultarse en Legendre y Birks (2012). Los datos polínicos fósiles permiten además realizar reconstrucciones cuantitativas de la vegetación o del clima del pasado. Existen numerosas técnicas y enfoques que han sido claramente revisados por Birks et al. (2010 y referencias allí citadas). Básicamente todas las técnicas requieren de un conjunto de calibración polen-clima actual, a partir del cual se construye una función de transferencia que, aplicada a los datos polínicos fósiles, permite estimar la variable climática y/o bioclimática de interés en el pasado.

4. El uso del polen como paleobioindicador en el Pleistoceno tardío y Holoceno

México

Los estudios palinológicos inician a mediados del siglo XX con los trabajos de Sears (1952), Sears y Clisby (1955) relacionados con las investigaciones arqueológicas y con la documentación estratigráfica de los amplios espesores lacustres de la cuenca de México. Es a partir de los años noventa que hay un desarrollo de la disciplina documentándose la historia de la vegetación del Pleistoceno tardío y Holoceno en las secuencias lacustres de la Faja Volcánica Transmexicana. La mayor parte de la investigación palinológica inicialmente se centró en esta región debido a su orografía, donde existen grandes elevaciones y cuencas intermontanas algunas con cuerpos de agua por la constante actividad volcánica desde el Terciario.

Los estudios multidisciplinarios ha tomado un gran auge en las últimas décadas, donde se combinan los datos sedimentológicos, geoquímicos y limnológicos con el registro polínico determinándose el cambio en composición de las comunidades de plantas, los procesos de erosión, la variabilidad climática, el impacto de la actividad volcánica y las alteraciones antropogénicas en el paisaje (Lozano-García et al. 1993; Lozano-García y Ortega, 1994).

Asociado al enfriamiento del último máximo glacial estimado entre 6 y 8°C (Vázquez-Selem y Heine 2011), se detecta en los registros polínicos de altitudes medias (2000 a 2600 m snm) la migración de los bosques a altitudes menores (alrededor 1000 m) y cambios en su composición, mostrando incremento del polen de herbáceas en particular de Poaceae. La variabilidad en escalas milenarias como los eventos Heinrich también observan en la dinámica de la vegetación en algunas localidades del centro de México (Correa-Metrio et al. 2012a). El calentamiento hacia finales del Pleistoceno se caracteriza por una mejor representación de las comunidades de bosque en los registros polínicos de este sector del país. Esta tendencia continúa durante el Holoceno temprano aunque hay una disminución en los niveles lacustres para el Holoceno medio. Una característica que comparten todos los registros sedimentarios lacustres es la huella del impacto humano en los cuerpos de agua y en el paisaje.

En la zona seca del norte de México los pocos registros de la historia de la vegetación muestran para San Felipe en Baja California una expansión de los bosques de juníferos y el aumento del nivel lacustre entre 34,000 y 12,000 años (Lozano-García et al. 2002). Durante la deglaciación (17 a 12 ka) el calentamiento y el incremento en la humedad promueve en la región central de México una mayor cobertura arbórea con desarrollo de bosques de pino y encino (Lozano-García et al. 2013). Utilizando datos polínicos del lago de Chalco en la cuenca de México se modeló la velocidad de cambio en la temperatura durante los últimos 30 ka (Correa-Metrio et al. 2013).

En el registro paleoambiental del lago de Zirahuén (Figura 2) (Lozano-García et al. 2013), localizado en la región central de México se observan las variaciones paleoambientales de los últimos 11.5 ka. En esta zona, el Holoceno temprano (11.5 a 7 ka) se caracterizó por fluctuaciones en el paisaje y en el lago. En la cuenca los bosques de *Pinus* dominan el final del Pleistoceno, sin embargo, hay un cambio en la composición de los bosques entre 9.5 a 9 ka donde se establecen bosques diversos con *Pinus*, *Quercus*, *Alnus* y *Carpinus* que indican condiciones más húmedas en la zona contrastando con los ambientes secos del final del Pleistoceno. En el lago, entre 11.5 y 9.5 se registró la presencia abundante de *Botryococcus*, esta microalga es característica de condiciones estables en lagos oligotróficos, acompañada de *Pediastrum simplex* y *Pediastrum boryanum* reportados para lagos oligotróficos (Tyson 1994). Entre 7.5 a 7.1 ka hay un recambio de especies tanto en la cuenca como en el lago, en respuesta a ambientes más húmedos, los bosques de *Alnus* dominan el conjunto polínico y la composición de la comunidad fitoplanctónica fósil cambia con la aparición de *Gloeotrichia aff equinulata*. Esta cianobacteria ha sido reportada en ambientes eutróficos sugiriendo un aumento en los nutrientes asociado a los cambios en precipitación en la cuenca los cuales incrementaron las tasas de aporte detrítico al lago. Posterior a éste episodio húmedo, se restablecen los bosques de pino y encino con la paulatina disminución de *Alnus*. Alrededor de 4.2 ka es cuando se registra un evento de sequía relacionado con el incremento en la actividad de El Niño. Se observa en el registro polínico influencia humana en el paisaje a partir de 3.5 ka con evidencia de agricultura por la presencia de *Zea mays*. Los datos indican deforestación con incremento de polen de herbáceas, aumento de tasas de erosión con aumento en los valores de susceptibilidad magnética y el incremento en las partículas de material carbonizado evidencia de eventos de fuego probablemente asociados a las actividades antrópicas en la cuenca. El impacto reciente con procesos de eutrofización se detecta por la presencia de *Scenedesmus*, *Staurastrum leptocladum* y *Coelastrum reticulatum* en el registro acuático.

Siendo los lagos fuente de recursos para los primeros pobladores, en la mayor parte de las secuencias lacustres de Mesoamérica y en particular en el centro y sur de México se detectan los cambios asociados a la actividad antrópica, en general se observan procesos de erosión, deforestación y eutrofización de los cuerpos de agua (Lozano-García et al. 2013; Caballero et al. 2002). El estudio detallado de los sedimentos lacustres ha permitido detectar cambios en los niveles de los lagos, en Yucatán se ha identificado la denominada Sequía Maya (200 a 800 dC) (Hodell et al. 2001; Medina-Elizalde et al. 2010). Durante la Pequeña Edad de Hielo (1350 a 1850 dC) se han reportado fluctuaciones del nivel lacustre en varias localidades del centro y sur de México (Hodell et al. 2005; Lozano-García et al. 2007).

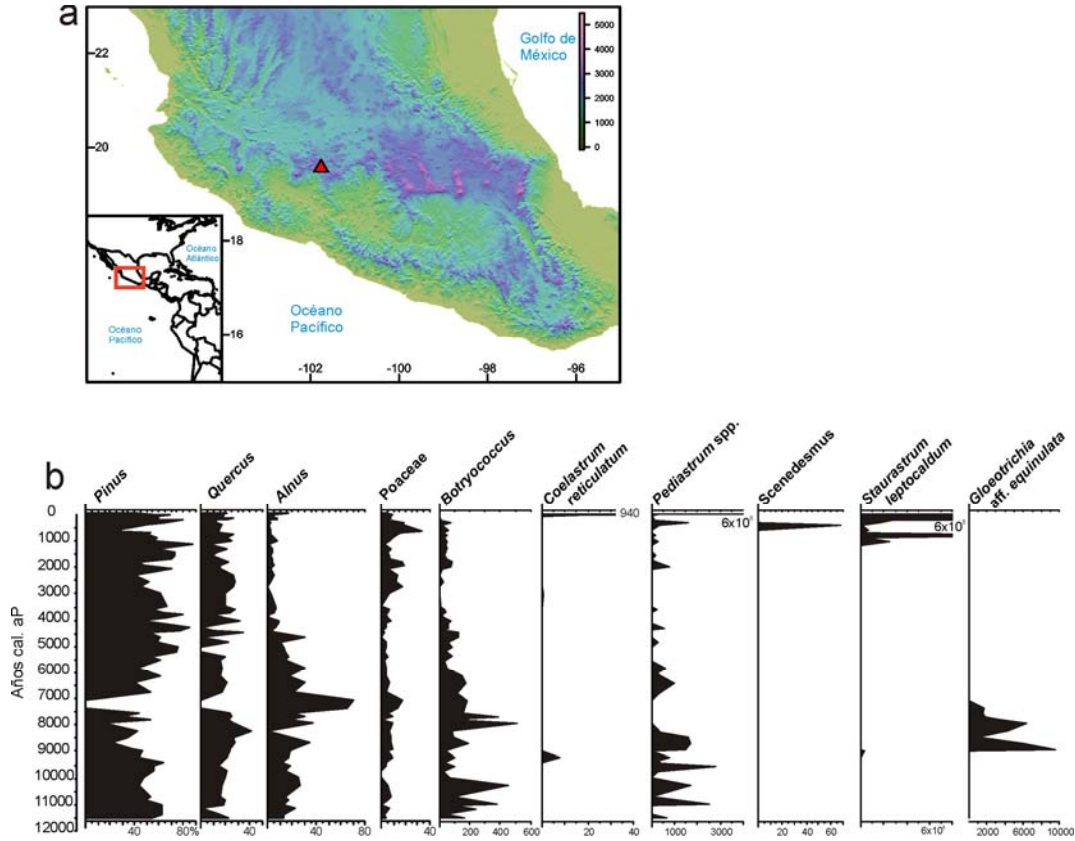


Figura 2. a. Mapa del centro de México señalando con un triángulo la localización del Lago de Zirahuén. b. Diagrama polínico resumido de los últimos 11.5 ka del lago de Zirahuén (Lozano-García et al., 2013). Los taxa polínicos (*Pinus*, *Quercus*, *Alnus* y *Poaceae*) se expresan en porcentajes y las microalgas en concentración.

En la península de Yucatán, las variaciones en el nivel del mar durante el periodo glacial afectaron los niveles freáticos de tal forma que los niveles lacustres aumentaron durante el Holoceno registrando, en lagunas y cenotes, el cambio de las comunidades y el paleoclima de los últimos 10 ka (Carrillo-Bastos et al. 2010; Islebe et al. 1996; Leyden, 2002).

Centroamérica

Al igual que en otras regiones de Latinoamérica, los estudios paleoecológicos en la región centroamericana inician a finales del siglo XX aunque son escasos comparados a otras zonas. Investigaciones paleoambientales restringidas al Holoceno tardío donde documentan el uso del suelo, agricultura y fuegos se reportan para Honduras (Rue et al. 2002) y El Salvador (Dull et al. 2004). El registro más detallado de la historia ambiental del lago Petén Itzá en las zonas bajas de Guatemala proporciona datos sobre la dinámica de la vegetación y evolución climática de los últimos 86 ka (Correa-Metrio et al. 2012b).

En Panamá es donde se han realizado más estudios palinológicos (Bush y Rivera, 1998; Piperno y Jones 2003), destacando el registro de El Valle por su amplitud temporal ya que abarca todo un ciclo glacial (Bush et al. 1990). El primer registro paleoecológico en las tierras bajas de Panamá fue realizado en el lago La Yeguada (Bush et al. 1992), en este estudio se documenta el enfriamiento cercano a 5°C para el Pleistoceno tardío con la presencia de bosques montanos. Posteriormente, la transición Pleistoceno-Holoceno se caracterizó por el aumento en la temperatura así como en la estacionalidad y la presencia de sedimentos bandeados. Elementos de los bosques más húmedos y tropicales se vuelven más frecuentes en el registro. Las algas *Coelastrum reticulatum*, *Botryococcus* y *Pediastrum* son abundantes hacia el inicio de Holoceno sugiriendo un régimen más cálido y eutrofización en el lago. El registro polínico del Holoceno muestra el incremento de los bosques tropicales así como el impacto humano en la zona.

Para Costa Rica en la Cordillera de Talamanca hay evidencias de cambios altitudinales en las franjas de vegetación sugiriendo la disminución de 2 a 3°C durante el evento del Younger Dryas (Islebe et al. 1995).

Sudamérica

En Sudamérica los primeros estudios palinológicos fueron realizados por Von Post y Auer en Patagonia durante la primera mitad del siglo XX. Pero fue recién en la década de los 80 en que la disciplina comienza a tener un mayor desarrollo con varios trabajos que fueron pioneros (ver D'Antoni 1983; Heusser 1989; Lorscheitter 1988; Markgraf 1983; Villagrán 1988). Actualmente hay numerosos grupos de investigación que están conformados no solo por palinólogos sino también por especialistas de otras disciplinas como geólogos, ecólogos, arqueólogos, climatólogos, que realizan reconstrucciones neo y paleo ambientales y climáticas. En el marco de estos estudios multidisciplinarios el polen continúa siendo un paleobioindicador por excelencia que permite inferir diferentes condiciones ambientales y climáticas. Entre los trabajos palinológicos en lagos se pueden citar, entre otros, Hanselman et al. 2011 y Williams et al. 2011 en los Andes de Perú-Bolivia, Fontana 2005, García-Rodríguez et al. 2010 y Stutz et al. 2010, 2012, 2014 en la llanura Pampeana, Markgraf et al. 2003, Moreno 2004, Wille et al. 2007, Bianchi y Ariztegui 2012, Fontana y Bennet 2012, de Porras et al. 2012, y Marcos et al. 2012, para Patagonia de Chile y Argentina.

En los últimos años, los estudios palinológicos han sido integrados dentro de una perspectiva de estudio de múltiples-indicadores con el objetivo de reconstruir la historia evolutiva de lagos someros de la llanura Pampeana y realizar inferencias paleoambientales y paleoclimáticas. Los estudios realizados hasta el momento demuestran una evolución sincrónica en la que se reconocen patrones y procesos de la dinámica de estos lagos en el pasado. Durante el Holoceno medio y por largos períodos (por ej. ca. 6500 años) el paisaje se caracterizó por lagos claros dominados por

carófitas, rodeados por vegetación halófila indicada por la dominancia de *Chenopodiaceae*; este paisaje se mantuvo estable bajo condiciones climáticas más secas que las actuales, con fluctuaciones de sequías e inundaciones y/o alta evaporación. Estas fluctuaciones son las que mantuvieron a las comunidades tanto acuáticas como terrestres. A partir de ca. 2000 años cal AP se incrementa la diversidad de macrófitas sumergidas, indicada por *Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Zannichelliay* *Potamogeton* y comienza a incrementarse *Cyperaceae* (macrófitas emergentes). Se produce entonces un cambio gradual, causado por un aumento en la intensidad y/o duración de las precipitaciones, que se efectiviza a los ca. 700-500 años cal AP, cuando los espectros polínicos de macrófitas emergentes, flotantes y sumergidas indican el establecimiento de los ecosistemas actuales (Stutz et al. 2014).

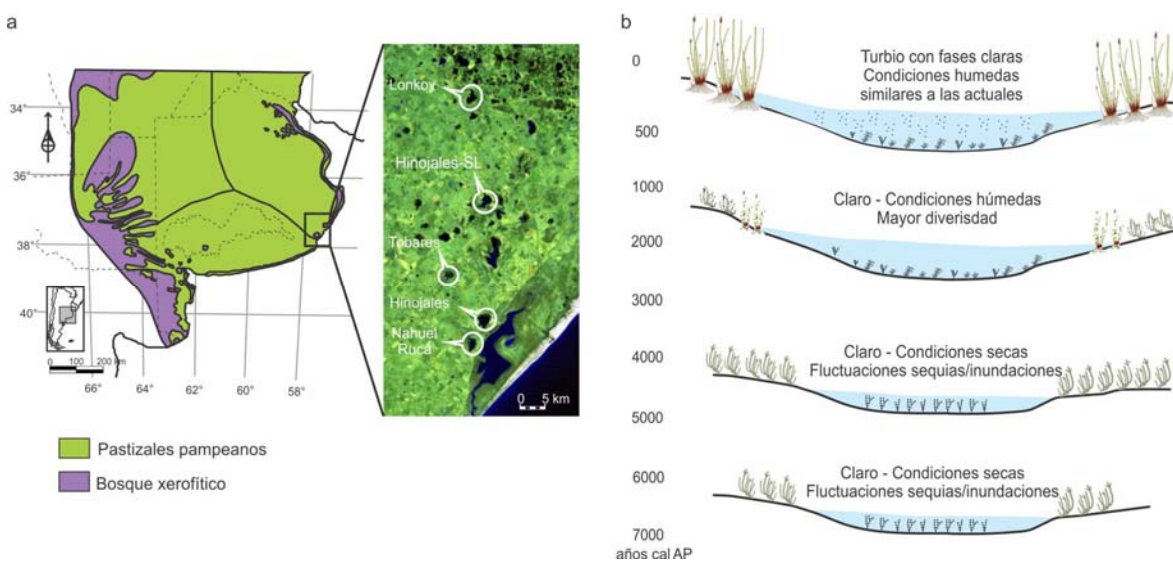


Figura 3. a. Ubicación de la llanura Pampeana y de los lagos someros (Lonkoy, Hinojales-SL, Tobares, Hinojales y Nahuel Rucá) en el sudeste. b. Esquema de la evolución paleoambiental y paleoclimática desde el Holoceno medio. Modificado de Stutz et al. 2014.

En Patagonia son numerosos los trabajos publicados con estudios palinológicos que no solo aportan información de la dinámica de la vegetación y condiciones ambientales sino también acerca de variaciones en la temperatura y/o precipitación, y de los mecanismos de circulación atmosférica asociados. Más allá de estas inferencias climáticas, el polen es un indicador biológico que puede ser utilizado para reconstruir cuantitativamente el clima del pasado. En Sudamérica, y en la región Neotropical en general, este tipo de estudio constituye una línea de investigación de reciente desarrollo. En el sur de Patagonia la evaluación de una base de datos polínicos y climáticos actuales mediante herramientas de análisis geográficos y diferentes procedimientos numéricos y estadísticos, permitió elaborar y comparar diferentes conjuntos de calibración (Tonello et al. 2010). El modelo polen-precipitación resultó ser

lo suficientemente confiable y con buen poder predictivo, lo que permitió aplicar funciones de transferencia (WA-PLS *weighted-averaging partial least squares*) a un registro polínico fósil de un mallín ubicado en el ecotono bosque subantártico-estepa (Cerro Frías, 50°24'S, 72°42'O). Los valores de precipitación anual estimados sugieren condiciones secas (200 mm) durante la transición Pleistoceno-Holoceno (12.500 – 10.500 años cal AP). Luego los valores aumentan a 300 – 350 mm entre 10.500 y 8000 años cal AP, y a 400 – 500 mm entre 8000 y 1000 años cal AP, sugiriendo condiciones más húmedas durante el Holoceno medio-tardío. A los 1000 años cal AP se registra un abrupto descenso en los valores de precipitación asociado a una retracción del bosque de *Nothofagus* y/o una expansión de la estepa (Tonello et al. 2009).

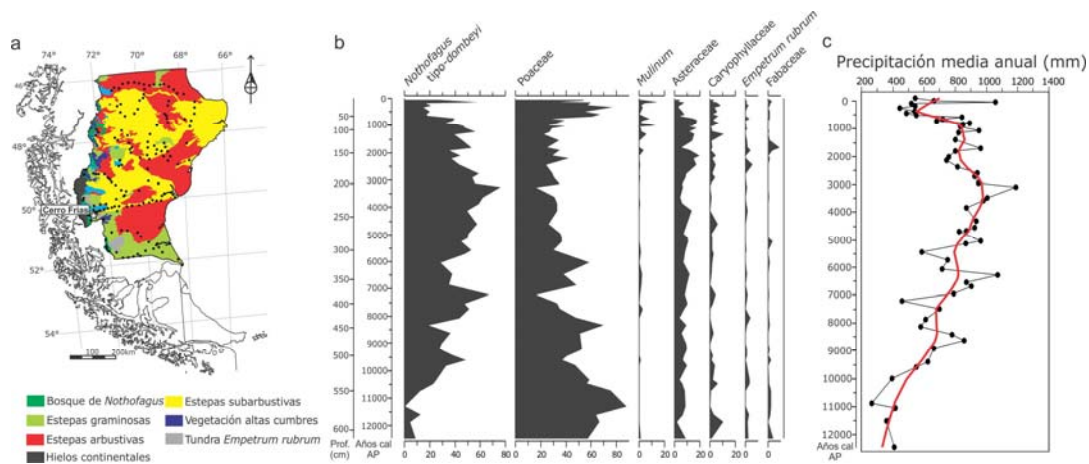


Figura 4. a. Ubicación de Patagonia Sur, de las muestras de polen de superficie y del sitio Cerro Frías. b. Diagrama con los principales tipos polínicos. c. Reconstrucción de la precipitación media anual, la línea roja es un *LOESS smoother* (span: 0.20; order: 1). Modificado de Tonello et al. 2009.

5. Perspectivas a futuro

Desde las décadas 80–90 la palinología en Latinoamérica y en el Caribe se ha ido incrementando tanto en cantidad de investigadores como en cantidad de trabajos. Han aumentado las investigaciones palinológicas integradas dentro de una perspectiva de estudio de múltiples-indicadores, lo que constituye el objetivo primordial de los estudios paleolimnológicos. Estos estudios han permitido establecer no sólo las variaciones en las comunidades terrestres y su relación con los cambios climáticos, sino que también se ha podido documentar la evolución de los cuerpos de agua con la inclusión en el análisis palinológico tradicional del conjunto de palinomorfos acuáticos y de los PNP. Además, durante los últimos 15 años, han comenzado a producirse trabajos con la aplicación de diferentes técnicas numéricas para la reconstrucción paleoambiental cuantitativa. Esto demuestra que aún hay aspectos de la palinología que necesitan ser reforzados, ya sea aumentando la cantidad de estudios como así también perfeccionando las metodologías.

6. Agradecimientos

Esta contribución fue parcialmente financiada por los proyectos EXA678/14 UNMdP y CONICET PIP 465 de los cuales M.T. y S.S. forman parte. Las fotos que ilustran la Figura 1 fueron cedidas por D. Navarro.

7. Referencias bibliográficas

- Bennett K.D. 2009. Psimpoll 4.27: C program for plotting pollen diagrams and analyzing pollen data. Available online from Queen's University of Belfast, Department of Archaeology and Palaeoecology. <http://www.chrono.qub.ac.uk/psimpoll/psimpoll.html>.
- Bianchi M.M., D'Antoni H.L. 1986. Deposición del polen actual en los alrededores de Sierra de Los Padres (Pcia. De Buenos Aires). IV Congr. Arg. Paleont. y Bioestrat. (Apéndices Actas), Mendoza: 16-27.
- Bianchi M.M., Ariztegui D. 2012. Vegetation history of the Río Manso Superior catchment area, Northern Patagonia (Argentina), since the last deglaciation. *Holocene* 22(11): 1283–1295.
- Birks H.J.B., Heiri O., Seppä H., Bjune A.E. 2010. Strengths and Weaknesses of Quantitative Climate Reconstructions Based on Late-Quaternary Biological Proxies. *Open Ecol. J.* 3: 68-110.
- Birks H.J.B., Lotter A.F., Juggins S., Smol J.P. 2012. *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 5: Data Handling and Numerical Techniques.* Springer, 717 pp.
- Books J. y Shaw G. 1998. Sporopollenin: a review of its chemistry, paleochemistry and geochemistry. *Grana* 17: 91-97.
- Bush M.B., Rivera R. 1998. Pollen dispersal and representation in a neotropical rain forest. *Global Ecology and Biogeography* 7 (5): 379-392.
- Bush M.B., Colinvaux P.A., Wiemann M.C., Piperno D.R., Liu K-B. 1990. Late Pleistocene temperature depression and vegetation change in Ecuadorian Amazonia. *Quat. Res.* 34: 330-345.
- Bush M.B., Piperno D.R., Colinvaux P.A., Kriesek L., De Oliveira P. E., Miller M.C., Rowe W. 1992. A 14,300 year paleoecological profile of a lowland tropical lake in Panama. *Ecological Monographs* 62: 251-276.
- Carrillo-Bastos A., Islebe G.A., Torrescano-Valle N., González N.E. 2010. Holocene vegetation and climate history of central Quintana Roo, Yucatan Peninsula, Mexico. *Rev. Palaeobot. Palynol* 160: 189-196.
- Caballero M., Ortega B., Valadez F., Metcalfe S.E., Macias J.L., Sugiura Y. 2002. Sta. Cruz Atizapán: a 22-ka lake level record and climatic implications for the late Holocene human occupation in the Upper Lerma Basin, Central Mexico. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 186: 217-235.

- Correa-Metrio A., Lozano-García M.S., Xelhuantzi-López S., Sosa-Najera M.S. 2012a. Vegetation in western central Mexico during the last 50 000 years: modern analogs and climate in Zacapu Basin. *J. Quat. Sci.* 27: 509-518.
- Correa-Metrio A., Bush M.B., Cabrera K.R., Sully S., Brenner M., Hodell D.A., Escobar J., Guilderson T. 2012b. Rapid climate change and no-analog vegetation in lowland Central America during the last 86,000 years. *Quat. Sci. Rev.* 38: 63-75.
- Correa-Metrio A., Bush M.B., Lozano-García M.S., Sosa-Nájera S. 2013. Millennial-scale temperature change velocity in the continental northern Neotropics. *PLoS ONE* 8 (12): e81958.
- Colinvaux P., De Oliveira E. Moreno E. 1999. Amazon pollen manual and atlas. Harwood Academic Publishers. Amsterdam, The Netherlands, 332 pp.
- D'Antoni H. 1983. Pollen analysis of Gruta del Indio. *Quaternary of South America and Antarctic Peninsula* 1: 83-104.
- de Porras M.E., Maldonado A., Abarzúa A., Cárdenas M.L., Francois J.P, Martel-Cea A., Stern C.R., Méndez C., Reyes O. 2012. Postglacial vegetation, fire and climate dynamics at Central Chilean Patagonia (Lake Shaman, 44°S). *Quat. Sci. Rev.* 50: 71-85.
- Dull R.A. 2004. An 8000-year record of vegetation, climate, and human disturbance from the Sierra de Apaneca, El Salvador. *Quat. Res.* 61:159-167.
- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Almqvist and Wiksell, Stockholm, 553 p.
- Fægri K., Iversen J. 1989. *Textbook of Pollen Analysis (Fourth Edition)*, John Wiley & Sons New York, 328 pp.
- Fontana S.L., Bennett K.D. 2012. Postglacial vegetation dynamics of western Tierra del Fuego. *Holocene* 22: 1337-1350.
- Fontana S.L. 2005. Holocene vegetation history and palaeoenvironmental conditions of the temperate Atlantic coast of Argentina, as inferred from multiple proxy lacustrine records. *J. Paleolimnol.* 34: 445-469.
- Fraser W.T., Scott A.C., Forbes A.E.S., Glasspool I.J., Plotnik R.E., Kening F., Lomax B.H. 2012. Evolutionary stasis of sporopollenin biochemistry revealed by unaltered Pennsylvanian spores. *New Phytologist* 196: 397-401.
- García-Rodríguez F., Stutz S., del Puerto L., Inda H., Bracco R., Castiñeira C. 2010. Late Quaternary vegetational, climatic and limnological changes in Negra Lagoon (SE Uruguay): the combined use of opal phytoliths, pollen, diatoms and chrysophyte cysts. *Hydrobiologia* 646: 5-20.
- Glew J.R., Smol J.P., Last W.M. 2001. Sediment core collection and extrusion. En: Smol J.P., Birks H.J.B. and Last W.M. (eds), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 1: Basin Analysis, Coring and Chronological Techniques*. Kluwer Academic Publishers, pp. 73-105.
- Gray J. 1965. Palynological techniques. En: Kummel B. y Raup, D. (eds.), *Handbook of paleontological techniques*. W.H. Freeman Co., San Francisco, pp. 530-587.
- Grimm E. 2013. TILIA 2.0.4. Software. Illinois State Museum. Springfield, USA.

- Hanselman J.A., Bush M.B., Gosling W.D., Collins A., Knox C., Baker P.A., Fritz S.C. 2011. A 370,000-year record of vegetation and fire history around Lake Titicaca (Bolivia/Peru). *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 305: 201-214.
- Heusser C.J. 1971. *Pollen and Spores of Chile*. The University of Arizona Press. Tucson. 167pp.
- Heusser C.J. 1989. Climate and chronology of Antarctica and adjacent South America over the past 30,000 yr. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 76: 31-37.
- Hodell D.A., Brenner M., Curtis J.H., Guilderson T. 2001. Solar forcing of drought frequency in the Maya lowlands. *Science* 292: 1367-1370.
- Hodell D.A., Brenner M., Curtis J.H., Medina-González R., Ildefonso-Chan Can E., Albornaz-Pat A., Guilderson T.P. 2005. Climate change on the Yucatan Peninsula during the Little Ice Age. *Quat. Res.* 63: 109-121.
- Islebe G.A., Van der Borg K., Hooghiemstra H. 1995. The younger Dryas climatic event in the Cordillera de Talamanca, Costa Rica. *Geologie & Mijnbouw [U3]:* 74: 281-283.
- Islebe G.A., Hooghiemstra H., Brenner M., Curtis J.H., Hodell D.A. 1996. A Holocene vegetation history from lowland Guatemala. *Holocene* 6 (3): 265-271.
- Juggins S. 2011. *C2 User Guide*. Software for ecological and palaeoecological data analysis and visualisation. University of Newcastle, Newcastle upon Tyne.
- Juggins S. 2012. *Rioja: Analysis of Quaternary Science Data*, R package version (0.8-2) <http://cran.rproject.org/package=rioja>
- Kapp, R.O. 1969. *How to know pollen and spores*. Wm. C. Brown Company Publishers, 249 p.
- Leyden B.W. 2002. Pollen evidence for climatic variability and cultural disturbance in the Maya lowlands. *Ancient Mesoamerica* 13: 85-101.
- Legendre P., Birks H.J.B. 2012. From Classical to Canonical Ordination. En: Birks H.J.B., Lotter A.F., Juggins S., Smol J.P. (ed.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Vol. 8: Data Handling and Numerical Techniques*. Springer, pp. 201-248.
- Lorscheitter M.L. 1988. *Palinología de sedimentos cuaternarios do testemunho T15, Cone do Rio Grande, Atlântico Sul, Brasil. Descrições taxonômicas*. *Pesquisas Porto Alegre* 21: 61-117.
- Lozano-García M.S., Ortega-Guerrero B., Sosa-Nájera S. 2002. Mid to late Wisconsin pollen record of San Felipe Basin, Baja California. *Quat. Res.* 58: 84-92.
- Lozano-García M.S., Ortega-Guerrero B., Caballero-Miranda M., Urrutia-Fucugauchi J. 1993. Late Pleistocene/Holocene Paleoenvironments of Chalco Lake, Central México. *Quat. Res.* 40: 332-342.
- Lozano-García M.S., Ortega-Guerrero B. 1994. Palynological and Magnetic Susceptibility Records of Chalco Lake, Central México. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 109: 177-191.
- Lozano-García M.S., Caballero M., Ortega B., Rodríguez A., Sosa S. 2007. Tracing the effects of the Little Ice Age in the tropical lowlands of eastern

- Mesoamerica. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 16200-16203
- Lozano-García M.S., Torres-Rodríguez E., Ortega B., Vázquez G., Caballero M. 2013. Ecosystem responses to climate and disturbances in western central Mexico during the late Pleistocene and Holocene. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 370: 184-195.
- Marcos M.A., Mancini M.V., Dubois M.F. 2012. Middle- to late-Holocene environmental changes in Bajo de la Quinta, NE Patagonia, inferred by palynological records and their relation to human occupation. *Holocene* 22(11): 1271-1281.
- Markgraf V. 1983. Late and Postglacial Vegetational and Paleoclimatic Changes in Subantarctic, Temperate, and Arid Environments in Argentina. *Palynology* 7: 43-70.
- Markgraf V., Bradbury P., Schwalb A., Burns S., Stern C., Ariztegui D., Gilli A., Anselmetti F., Stine S., Maidana N. 2003. Holocene palaeoclimates of southern Patagonia: limnological and environmental history of Lago Cardiel, Argentina. *Holocene* 13: 581-591.
- Markgraf V., D'Antoni H.L. 1978. *Pollen Flora of Argentina*. The University of Arizona Press. Tucson. 208 pp.
- Medina-Elizalde M., Burns S.J., Lea D.W., Asmerom Y., von Gunten L., Polyak V., Vuille M., Karmalkar A. 2010. High resolution stalagmite climate record from the Yucatan Peninsula spanning the Maya terminal classic period. *Earth Planet. Sci. Lett.* 298: 255-262.
- Moreno P.I. 2004. Millennial-scale climate variability in northwest Patagonia over the last 15 000 yr. *J. Quat. Sci.* 19(1): 35-47.
- Moore P.D., Webb J.A., Collinson M.E. 1991. *Pollen analysis*. Blackwell Scientific, London, 216 pp.
- Palacios-Chávez R., Ludlow-Wiechers B., Villanueva R. 1991. *Flora palinológica de la reserva de Sian Kaán, Quintana Roo, México*. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, 321 pp.
- Piperno D.R., Jones J.G. 2003. Paleoeological and Archaeological Implications of a Late Pleistocene/Early Holocene Record of Vegetation and Climate from the Pacific Coastal Plain of Panama. *Quat. Res.* 59 (1): 79-8.
- Prentice I.C. 1988. Records of vegetation in time and space: The principles of pollen analysis. En: Huntley B. and Webb III T. (eds.) *Vegetation History*, Kluwer Academic Publishers, pp. 17-42.
- Punt W., Blackmore S., Nilsson S., Le Thomas A. 1994. Glossary of pollen and spore terminology. LPP Contributions Series No. 1. LPP Foundation, Utrecht, 71 pp.
- Roubik D.W., Moreno J.E. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island. *Monographs in Systematics from the Missouri Botanical Garden* Vol. 36.
- Rubinstein C.V., Gerrienne P., de la Puenete G.S., Astini R.A., Steemans P. 2010. Early middle Ordovician evidence for land plants in Argentina (eastern Gondwana). *New Phytologist* 188: 365-369.

- Rue D.J., Webster D., Traverse A. 2002. Late Holocene fire and agricultura in the Copán valley, Honduras. *Acient Mesoamerica* 13: 267-272.
- Salgado-Labouriau M.L. 1973. Contribuição à Palinologia dos Cerrados. Academia Brasileira de Ciencias, Rio de Janeiro, 291 pp.
- Sánchez-Dzib Y., Sosa-Nájera S., Lozano-García S. 2009. Morfología Polínica de Especies de la selva Mediana Sub-perennifolia de la Cuenca del río Candelaria. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 84: 83-104.
- Sears P.B. 1952. Palynology in southern North America, Part II. Archeological horizons in the basins of Mexico. *Bulletin of the Geological Society of America* 63(3): 241-254.
- Sears P.B., Clisby K.H. 1955. Palynology in southern North America, Part 4. Pleistocene climate in Mexico. *Bulletin of the Geological Society of America* 66: 521-530.
- Seppä H. 2013. Pollen analyses, principles. En: Elias S.A. (ed.), *Encyclopedia of Quaternary Science* 2nd edition, pp. 794-804. Disponible: http://www.sciencedirect.com/science/module/topic/9780124095489/Concept-000239?_si=1&_ct=25
- Seppä H., Bennett K.D. 2003. Quaternary pollen analysis: recent progress in palaeoecology and palaeoclimatology. *Progress in Physical Geography* 27: 548-79.
- Stockmarr J. 1971. Tablets with Spores used in Absolute Pollen Analysis. *Pollen et Spores* 13: 615-621.
- Stutz S., Borel C.M., Fontana S., del Puerto L., Inda H., García-Rodríguez F., Tonello M.S. 2010. Late Holocene environmental evolution of Nahuel Rucá freshwater shallow lake, SE Pampa grasslands, Argentina. *J. Paleolimnol.* 44(3): 761- 775.
- Stutz S., Borel C.M., Fontana S.L., Tonello M.S. 2012. Holocene changes in trophic states of shallow lakes from the Pampa plain of Argentina. *Holocene* 22 (11): 1215-1222.
- Stutz S., Tonello M.S., Gonzalez Sagrario M.A., Navarro D., Fontana S.L. 2014. Historia ambiental de los lagos someros de la llanura Pampeana desde el Holoceno medio. *Inferencias paleoclimáticas. Journal of Sedimentology and Basin Analysis* 21(2): 119-138.
- Sugita S. 1993. A model of pollen source area for an entire lake surface. *Quat. Res.* 39: 239-244.
- Tonello M.S., Mancini M.V., Seppä H. 2009. Quantitative reconstruction of Holocene precipitation changes in Southern Patagonia. *Quat. Res.* 72: 410-420.
- Tonello M.S., Mancini M.V., de Porras M.E., Bamonte F.P., Sottile G. 2010. Pollen and climate dataset at southern Patagonia: evaluating weaknesses and strengths for quantitative palaeoclimatic reconstructions. II International Symposium "Reconstructing Climate Variations in South America and the Antarctic Peninsula over the last 2000 years". Libro de resúmenes, 202, CIN, Valdivia, Chile.
- Traverse, A. 2008. *Paleopalynology*, 2nd edition. Topics in Geobiology, Vol. 28, Springer, The Netherlands, 813 pp.

- Tyson R. 1994. Sedimentary organic matter: organic facies and palynofacies. Springer-Verlag, New York, 591 pp.
- van Geel B. 1978. A palaeoecological study of Holocene peat bog sections in Germany and the Netherlands. *Rev. Palaeobot. Palynol* 25: 1-120.
- van Geel B. 2001. Non-pollen palynomorphs. En: Smol J.P., Birks H.J.B., Last W.M. (eds.), *Tracking environmental change using lake sediments. Vol 3: Terrestrial, algal and siliceous indicators.* Kluwer, Dordrecht, pp. 99-119.
- Vázquez-Selem L., Heine K. 2011. Late Quaternary Glaciation in Mexico. En: Ehlers J., Gibbard P.L., Hughes P.D. (eds.), *Quaternary Glaciations - Extent and Chronology. A closer look. Vol 15: Developments in Quaternary Science,* Amsterdam, Elsevier, pp. 849-861.
- Villagran C. 1988. Late quaternary vegetation of southern Isla Grande de Chiloé, Chile. *Quat. Res.* 29 (3): 294-306.
- Wille M., Maidana N., Schäbitz F., Fey M., Haberzettl T., Janssen S., Lücke A., Mayr C., Ohlendorf C., Schleser G., Zolitschka, B. 2007. Vegetation and climate dynamics in Southern South America: the microfossil record of Laguna Potrok Aike, Santa Cruz, Argentina. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 146: 234-246.
- Williams J.J., Gosling W.D., Brooks S.J., Coe A.L. Xu S. 2011. Vegetation, climate and fire in the eastern Andes (Bolivia) during the last 18,000 years. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 312: 115-126.

Capítulo 4: Fitólitos

Alejandro F. Zucol, Laboratorio de Paleobotánica CICYTTP-CONICET, Materi y España s/n, Diamante (E3105BWA), Entre Ríos, Argentina / Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Argentina, cidzucol@infoaire.com.ar

Margarita Osterrieth, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras-CONICET-UNMdP, Instituto de Geología de Costas y del Cuaternario-FCEyN-UNMdP-CIC, CC722 (7600) Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, mosterrii@hotmail.com

Natalia L. Borrelli, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras-CONICET-UNMdP, Instituto de Geología de Costas y del Cuaternario-FCEyN-UNMdP-CIC, CC722 (7600) Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, nlborel@mdp.edu.ar

Noelia I. Patterer, Laboratorio de Paleobotánica CICYTTP-CONICET, Materi y España s/n, Diamante (E3105BWA), Entre Ríos, Argentina / Facultad de Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Argentina, noepatt1@hotmail.com

Palabras clave: Biomineralizaciones, Silicofitólitos, Calcifitólitos, Latinoamérica.

A la memoria del Dr Dafydd Wynn Parry (1919-2015)

1. Introducción

Los fitólitos son biomineralizaciones de origen vegetal, es decir, depositaciones minerales y mineraloides generadas como consecuencia de distintos procesos metabólicos de los organismos vegetales (Coe et al. 2014). Es relevante destacar que las biomineralizaciones han acompañado la evolución de la vida desde los inicios de la presencia de la biota en el planeta; por lo cual están presentes en todos los niveles de la biósfera (Osterrieth 2004). En las plantas vasculares se encuentran presentes en idioblastos, elementos celulares discordantes del resto de las células de los tejidos, denominados litocistos. Los fitólitos pueden formarse en el citoplasma celular, ocupar todo el lumen de la célula o bien espacios intercelulares, dando origen a distintas formas que en muchos casos permiten reconocer los tejidos en donde se originaron, como así también, el grupo taxonómico que los produce. De acuerdo a su composición química, los fitólitos pueden ser cálcicos o calcifitólitos, y se encuentran principalmente presentes en depositaciones cristalinas de oxalato y carbonato de calcio (Prychid y Rudall 1999), originadas mayoritariamente en los tejidos parenquimáticos. Por otra parte, los fitólitos silíceos o silicofitólitos, que se originan por la depositación de sílice amorfa hidratada o dióxido de silicio polimerizado, principalmente en los tejidos epidérmicos/subepidérmico, de conducción y sostén (*sensu* Hayward y Parry 1973; Amos 1952).

2. Biología

Origen y variabilidad

Calcifitolitos

La depositación de cristales de oxalato de calcio es muy común en los tejidos vegetales ya que es el proceso por el cual las plantas neutralizan el exceso de calcio (Lersten y Horner 2008b). Estos cristales se forman a partir del calcio proveniente del medio ambiente, que es absorbido por las raíces y distribuido por la planta vía xilema de acuerdo al flujo que generan los procesos tenso-coheso-transpiratorios; y del oxalato sintetizado biológicamente (Lersten y Horner 2008b). Su presencia se ha reportado en más de 215 familias, pudiendo generarse en cualquier estructura de la planta: flores, hojas, tallos, raíces y semillas; en sus dos formas: monohidratada ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, whewellita) y polihidratada ($\text{CaC}_2\text{O}_4 (2+X) \text{H}_2\text{O}$, wheddellita) de acuerdo a Franceschi y Nakata (2005), siendo whewellita la forma termodinámicamente más estable (Baran y Monje 2008).

Los cristales de oxalato de calcio pueden adoptar diferentes morfologías, algunas de ellas con alto grado de complejidad: prismas, que se presentan solitarios o en cantidad dentro de una única célula; estiloides, cristales elongados que se encuentran solitarios en las células; ráfides, que se presentan como manojos de forma aguzada; drusas, conglomerados de cristales que se disponen solitarios aunque en algunos casos pueden encontrarse varios por célula y arenas de cristales, que se definen como masas de cristales angulosos de 1 a 40 μm (Figura 1 y 2 A) (Franceschi y Nakata 2005).

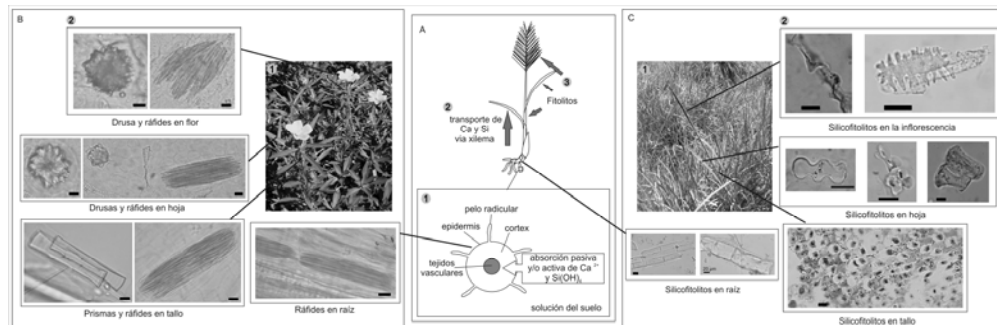


Figura 1. A. Esquema de la formación de fitolitos: 1) Esquema de la sección transversal de la raíz de una planta donde es absorbido el calcio y el ácido monosilícico; 2) Transporte de calcio y silicio a través del xilema; 3) Localización de los fitolitos en la planta. **B.** Cristales de oxalato de calcio en diferentes órganos de *Ludwigia peploides*, herbácea nativa característica de ambientes acuáticos: 1) Detalle de las hojas, tallo y flor, 2) Oxalatos de calcio observados mediante el clarificado de diferentes órganos (hoja, tallo, raíz, flor). **C.** Silicofitolitos en diferentes órganos de una gramínea nativa pampeana (*Paspalum quadrifarium*): 1) Detalle de la inflorescencia y del tallo, 2) Silicofitolitos obtenidos mediante calcinación en diferentes órganos (inflorescencia, hojas, tallo y raíz). Barra 10 μm . (modificado de Coe et al. 2014).

Los cristales de oxalato de calcio pueden encontrarse en un único tejido o en múltiples tejidos dentro de una misma especie. La morfología de los cristales puede ser de un solo tipo en toda la planta, de varios tipos de acuerdo al órgano en el cuál se encuentren, o también, distintas morfologías pueden hallarse en el mismo órgano vegetal (Franceschi y Nakata 2005). Aún con este amplio rango de posibilidades, la morfología de los cristales y su distribución es constante dentro de los taxones vegetales, por lo cual, estas características son consideradas caracteres taxonómicos (Monje y Baran 2002) que indican, a su vez, una estrecha regulación genética sobre la formación de estas biomineralizaciones (Franceschi y Nakata 2005).

Cabe destacar, que otro grupo de organismos que poseen una importante producción de biomineralizaciones oxalatos y carbonatos de calcio, son las comunidades fúngicas. Estos organismos generan cristales de manera intra y/o extracelular, con morfologías muy semejantes a las generadas por las plantas (Figura 2 B) (Verrecchia et al. 1993).

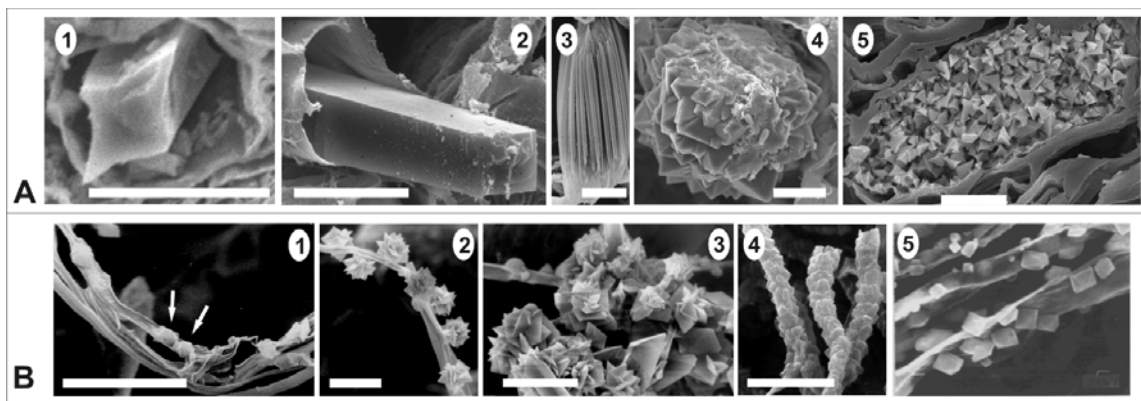


Figura 2. Principales morfologías de cristales de oxalato de calcio en **A:** plantas. 1) Prisma (Borrelli et al. 2009), 2) Estiloide (Prychid y Rudall 1999), 3) Ráfides (Prychid y Rudall 1999), 4) Drusas (Borrelli et al. 2008a), 5) Arenas de cristales. **B:** en hongos. 1) Núcleos primarios (Osterrieth et al. 2000), 2) Rosetas (Osterrieth et al. 2000), 3) Drusas (Osterrieth et al. 2000), 4) romboedros de calcita (Osterrieth 2004), 5) Dipirámides (Osterrieth 2004) Barra: 10 μm en todos excepto en A2, B3, B4: 100 μm .

Silicofitolitos

Las depositaciones silíceas se encuentran presentes en diversos grupos de las plantas vasculares y no vasculares (Hodson et al. 2005), siendo las familias Poaceae, Cyperaceae y Arecaceae las principales productoras (Piperno 2006). Las plantas absorben el ácido monosilícico de la solución del suelo, que es transportado vía xilema y finalmente depositado como biomineralizaciones de sílice amorfo (Bertoldi de Pomar 1975). Su presencia, como así también la forma en que se deposita se encuentra vinculado a factores genéticos/metabólicos en contraste, con los factores

mesológicos/ambientales en que se desarrolla cada individuo. Por lo cual, el modo y las características en que los distintos grupos vegetales depositan la sílice amorfa resulta en muchos casos particular originando distintas formas fitolíticas, pudiendo copiar parcial o totalmente la forma celular (Parry y Smithson 1964), generarse libre en el citoplasma (Tomlinson et al. 2011) y/o en los espacios intercelulares (Piperno 2006), por lo cual, sus formas generalmente guardan relación con los componentes tisulares en donde se han formado.

Así, algunos autores consideran que, de acuerdo al tipo de depositación se pueden diferenciar las formas que ocurren dentro de las células, como así también, las depositaciones en espacios intercelulares. Estableciendo además una diferencia entre las células silíceas típicas (cuerpos silíceos, silica bodies) para los elementos que se forman durante el desarrollo del vegetal y componen los tejidos de modo habitual (Figura 3); y silicificaciones atípicas, que se dan en casos particulares ya sean traumáticos o bien en respuesta a etapas fenológicas (Blackman y Parry 1968; Blackman 1971; Sangster 1970a y b). La concentración de los fitolitos en la planta variará con la etapa fenológica del vegetal, como así también, en relación con las diferentes partes de la planta (Bertoldi de Pomar 1975, Zucol 2001). Mientras que la abundancia de sílice será variable de acuerdo a los procesos metabólicos que acompañan la vida del vegetal, y a la localización de muchos de estos procesos en ciertos órganos. Por ejemplo, Parry y Smithson (1958) describen el proceso de silicificación de células buliformes foliares de gramíneas, y observan que esta mineralización se incrementa en etapas próximas a la desecación de la hoja, que es cuando estas células pierden su importancia funcional en la apertura y cierre higroscópico de la hoja, y en el almacenamiento de agua. Los silicofitolitos, además del dióxido de sílice, se componen por agua (4-10%) y trazas de Al, Fe, Mn, Mg, P, Cu y N, pudiendo presentar carbono orgánico ocluido en la matriz silícea (Lanning et al. 1958; Jones y Beavers 1963; Wilding 1967; Handreck y Jones 1968; Lewin y Reimann 1969; Bartoli y Wilding 1980). Son cuerpos sólidos, hialinos, transparentes u opacos (según su contenido de materia orgánica y microelementos), de apariencia vítrea, óptimamente isotrópicos, con un índice de refracción (IR) de 1.410 (1.458) 1.465 (Teruggi 1955; Jones y Beavers 1963; Piperno 2006). El tamaño de estos cuerpos se encuentra dentro del rango 5-250 μm y su peso específico oscila entre 1.50 (2.10) 2.30 gr/cm^3 (Jones y Milne 1963; Lanning 1963). En general, los fitolitos (calcifitolitos y silicofitolitos) son necesarios para el normal crecimiento y desarrollo de las plantas ya que brindan distintos tipos de beneficios en lo referente a su metabolismo y economía fisiológica, proveen rigidez y permiten que los órganos se mantengan erguidos favoreciendo el aprovechamiento de la energía solar y participando además en procesos de detoxificación al inmovilizar metales y otros contaminantes (Jones y Handreck 1967; Epstein 1999; Prychid y Rudall 1999; Molano-Flores 2001; Massey et al. 2007). Se han detectado interacciones beneficiosas entre la sílice y otros elementos, como el Zn, Mn y P. A niveles tóxicos de Mn, el agregado de Si disminuye la toxicidad, ya que aumenta la capacidad del tejido foliar a tolerar el Mn en plantas de arvejas (*Phaseolus vulgaris*). En

algunos casos como en la cebada, el Si no disminuye la toxicidad de la elevada concentración de Mn, sino que, favorece su mejor distribución en toda la planta (Jones y Handreck 1967; Epstein 1994; 1999). En cereales como arroz y trigo, el Si favorece la resistencia del estrés salino disminuyendo la concentración de sodio (Epstein 1994; 1999). Asimismo contribuye a la resistencia de ataques de hongos, parásitos y herbívoros en cultivos y gramíneas en general (Epstein 1994; 1999; McNaughton et al. 1985); y afecta positivamente al crecimiento y desarrollo de varias especies, como es el caso de *Bromus secalinus* y *Cucumis sativus* (pepino) de acuerdo a Epstein (1994).

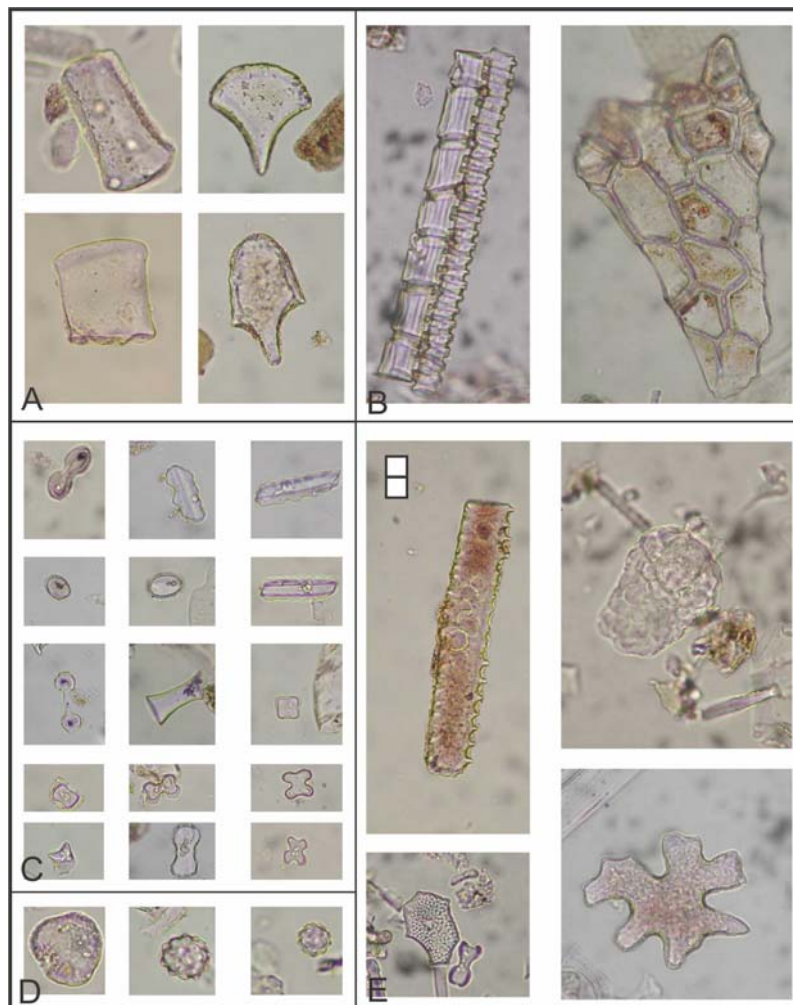


Figura 3. Principales morfotipos de silicofitolitos ejemplificados a partir de material obtenido de sedimentos cuaternarios de la provincia de San Luis (Argentina). Silicificaciones atípicas: **A.** Fitolitos poliédricos y en forma de abanico. **B.** Fitolitos de origen multicelular originados a partir de tejido de conducción y esclerenquimático. **C.** Distintos fitolitos pequeños, originados en células cortas de gramíneas. **D.** Fitolitos globulares lisos y espinosos. **E.** Distintos fitolitos de mayor tamaño originados en tejido epidérmico graminoide y de dicotiledóneas, como en tejidos subepidérmicos para el caso de los cistolitos. Escala gráfica en E = 20 μ m.

La incorporación de Si a la pared celular tiene dos efectos energéticos positivos: por un lado el rol del Si es análogo al de la lignina, ya que es un componente estructural compresivo-resistente. El costo energético de incorporar Si es 3.7% del costo de la lignina. Por otro lado, favorece el hábito erecto y la disposición de las hojas lo que permite una mayor intercepción solar y mayor tasa fotosintética. También es importante en las células de las raíces, ya que las ayuda a crecer en un medio donde domina la fase sólida (Epstein 1994). Mientras que desde un punto de vista ecológico, tanto por un aspecto de palatabilidad, como de procesos mecánicos, resultan una de las adquisiciones –conjuntamente con la de tejidos celulósicos y lignificados– de los vegetales en respuesta a los fenómenos coevolutivos de herbivoría (Stebbins 1981; Stromberg 2004), y a fenómenos de resistencia a enfermedades, toxicidades y ataques de insectos (Rovner 1988).

Los fitólitos en la naturaleza

Al igual que todos los elementos esenciales tanto el silicio como el calcio, participan de los ciclos biogeoquímicos mediante los cuales, a partir de procesos biológicos, geológicos y químicos, se transforman en formas disponibles para los organismos (Li et al. 2006). Si bien, tradicionalmente los estudios referidos a los ciclos biogeoquímicos se han centrado en el rol de los minerales de origen inorgánico, en la última década se han intensificado los trabajos referidos al rol de las biomineralizaciones de origen vegetal en la biogeoquímica, génesis y evolución de suelos de ambientes terrestres y acuáticos (Osterrieth 2006; Borrelli et al. 2009; Borrelli et al. 2010; Osterrieth et al. 2009, 2012, 2014). Así las plantas, mediante procesos de absorción radicular activa y/o pasiva, absorben los elementos de la solución del suelo, siendo el ácido monosilícico (H_4SiO_4) la forma química en que incorpora el silicio; mientras que el calcio es absorbido fundamentalmente como catión (Ca^{++}). En la planta, los elementos son distribuidos vía xilema y precipitan como biomineralizaciones en los distintos órganos.

Una vez que la planta muere o se produce la abscisión de un órgano, los tejidos vegetales pasan a formar parte de los horizontes orgánicos y minerales donde, mediante los procesos de degradación y mineralización de la materia orgánica (etapa de necrólisis), las biomineralizaciones, tanto silicofitolitos como calcifitolitos, pasan a formar parte de los suelos (Osterrieth 2008; Borrelli et al. 2009; Osterrieth et al. 2009; Borrelli et al. 2010). Los fitólitos pueden depositarse *in situ* o ser transportados por el viento y/o agua previo a su depositación (etapa de bioestratinomía) (Fernández Honaine et al. 2009; Osterrieth et al. 2009). En el caso específico de los calcifitolitos, es importante tener en cuenta que otra fuente de estas biomineralizaciones la constituyen además de las plantas, las comunidades fúngicas que se desarrollan en los horizontes orgánicos (Graustein et al. 1977; Osterrieth et al. 2000; Borrelli et al. 2009).

Como parte de su etapa bioestratinómica (modificaciones experimentadas desde la producción biogénica hasta su enterramiento) se debe considerar que los calcifitolitos

se degradan rápidamente dado que son muy susceptibles a la disolución en pHs levemente ácidos. Es por ello que raramente son observados en los suelos y/o sedimentos, y representan una importante fuente de calcio al sistema que queda disponible en solución y en equilibrio con el complejo de intercambio (Graustein et al. 1977; Pinilla et al. 1997; Borrelli et al. 2009). Mientras que los silicofitolitos, si bien permanecen en el registro, las tasas de disolución son más rápidas que los minerales y mineraloides de origen inorgánico y, dependiendo de su grado de silicificación, como del pH, el contenido de óxidos-hidróxidos de hierro, etc., estas biomineralizaciones pueden disolverse totalmente, presentarse muy alterados (lo que no permite identificar su morfología original), o mantener su forma con distintos grados de alteración química y/o física (Osterrieth et al. 2009; Borrelli et al. 2010).

Continuando con el ciclo tafonómico de los fitolitos (Bowdery 1999; Osterrieth et al. 2009; Madella y Lancelotti 2012), la etapa fosildiagenética (procesos experimentados post-enterramiento) dependerá de las condiciones del medio, como así también, de las posibilidades de conservación *in situ* o de redepositación. Entonces, los silicofitolitos pueden provenir de organismos actuales, así como también de entidades tafonómicas que son (para-) taxonómicamente significativas y determinables. Las entidades tafonómicas portan información paleobiológica, y han sido generadas directa o indirectamente por entidades biológicas del pasado, pero no son entidades biológicas s.s., sino que se conforman por los remanentes (ya sean caracteres directos o indirectos) de la entidad biológica del pasado que perduraron a los procesos tafonómicos. En forma complementaria, los estudios de silicofitolitos a partir de vegetales actuales brindan los conceptos básicos para el conocimiento de la variabilidad y presencia de los diferentes tipos fitolíticos, lo cual permite valorizar a los mismos como bioindicadores al momento de estudiar las entidades tafonómicas.

El calcio y silicio disponible en solución producto de la degradación de las biomineralizaciones y de los minerales inorgánicos puede: a) ser absorbido nuevamente por la vegetación para ser utilizado en distintos procesos celulares o para ser nuevamente precipitado como biomineralización; b) perderse mediante procesos de lavado superficial, subsuperficial y hacia las aguas subterráneas, y de esta manera conectarse con los cuerpos y/o cursos de agua; c) formar parte de la neoformación de minerales secundarios; y d) participar en la formación de complejos órgano-minerales estables y en las matrices de los agregados; afectando directamente la estabilidad estructural y la pedogénesis de los suelos (Osterrieth et al. 2012, 2014).

3. Metodologías de obtención

Fitolitos en plantas

Para la obtención de fitolitos a partir de material vegetal se utilizan diferentes procedimientos dependiendo de cada tipo de fitolito. Para el caso de los calcifitolitos, luego del lavado y limpieza del material a procesar, se utilizan distintas técnicas para degradar los tejidos vegetales y poder realizar la observación de las biomineralizaciones: perborato de sodio, agua oxigenada y calor (Pinilla et al. 1997); ácido acético glacial (Coil et al. 2003); peróxido de hidrógeno y bicromato de potasio (Jones 1988); etanol e hidróxido de sodio (Sunell y Healey 1985). Además, se utilizan técnicas histológicas con el objetivo de poder realizar la descripción de las morfologías y su distribución tisular en cada uno de los órganos; como así también su cuantificación. Para ello es posible realizar cortes transversales y clarificación de los tejidos vegetales mediante la técnica de diafanizado de Strittmater (Dizeo de Strittmater 1973) o con hipoclorito de sodio al 50%. Cualquiera sea el tratamiento utilizado, el material obtenido se monta en gelatina-glicerina obteniéndose preparaciones semipermanentes para su posterior observación al microscopio óptico. La extracción de silicofitolitos a partir de tejidos vegetales, puede realizarse mediante dos técnicas ampliamente utilizadas: la digestión química y la calcinación. Desde la década de los '70, estas dos técnicas han despertado entre los numerosos investigadores estudiosos de fitolitos el debate acerca de las ventajas y desventajas que tiene cada una de ellas (Jones y Milne 1963; Rovner 1971, 1972; Runge 1998; Parr y Sullivan 2011, entre otros). El procedimiento de la digestión química, consiste en la utilización de un agente fuertemente oxidante para digerir los componentes orgánicos de una muestra vegetal, dejando libre sólo los materiales inorgánicos, incluyendo los silicofitolitos, presentes en la planta (Pearsall 2000). La calcinación es la técnica más tradicional y se basa en la incineración de los tejidos vegetales a altas temperaturas en dos etapas: a) 200° C durante 2 horas y b) 800° C durante 2 horas; con una digestión química en el medio (ácido clorhídrico en caliente), permitiendo así reducir los tejidos orgánicos a cenizas dejando intactos los fitolitos de sílice amorfo y demás materiales inorgánicos (De Campos y Labouriau 1969; Labouriau 1983). Para su observación al microscopio, el material obtenido puede montarse en medios temporales como aceite de inmersión, lo que posibilita la movilización del material y la descripción y cuantificación de las distintas morfologías presentes con mayor precisión. Mientras que para repositorio, se realiza un duplicado en un medio permanente, como por ejemplo Bálsamo de Canadá.

Fitolitos en suelos, paleosuelos y sedimentos

Distintos métodos de extracción de silicofitolitos han sido propuestos de acuerdo a la naturaleza de los materiales a estudiar, suelos, paleosuelos, sedimentos, materiales arqueológicos (Bertoldi de Pomar 1976; Fredlund 1986; Kondo et al. 1987; Piperno 1988; Rovner 1990; Pearsall 2000; Zucol y Osterrieth 2002; Álvarez et al. 2008; Zucol et

al. 2010 a y b). Las cuales, si bien variando algunas etapas, coinciden en los siguientes pasos:

Desagregación de las muestras: Para ello es necesario la eliminación de cementantes y revestimientos, como por ejemplo sales solubles, carbonatos, óxidos y oxidróxidos de hierro y materia orgánica, mediante la utilización de agua destilada, ácido clorhídrico y agua oxigenada, entre otros.

Dispersión de la muestra mediante el uso de hexametáfosfato de sodio (calgón) u otro dispersante: Algunas metodologías sugieren, luego de la dispersión, el fraccionamiento de acuerdo al tamaño de partículas, ya sea por tamizado (para los tamaños mayores a 53 y/o 62 μm), como por decantación (en las fracciones menores al mencionado tamaño).

Separación densimétrica del material: Los tamaños de los silicofitolitos se encuentran principalmente entre los 5 a los 250 μm , es por ello que se utiliza este rango para realizar la concentración fitolítica, mediante densimetría. La separación de las partículas por su peso específico se implementa mediante el uso de un líquido pesado en una solución cuya densidad es ajustada a 2.345 gr/cm^3 aproximadamente. Los líquidos pesados de alta toxicidad y elevado residuo, tales como el bromoformo, han sido dejados de lado y actualmente se utilizan soluciones acuosas reciclables, tales como la de politungstato de sodio. Esta separación, permite obtener las partículas más livianas (las cuales flotan en el líquido) entre las cuales se encontrará toda la sílice amorfa (biolitos y vidrio volcánico), mientras que la gran mayoría del material mineral se depositará y conformará la fracción pesada que no es estudiada. Con la fracción liviana así obtenida se realizan las preparaciones microscópicas permanentes y semipermanentes, utilizando medios de montajes acorde a los índices de refracción de los.

Características de los fitolitos y su tratamiento

Caracteres morfométricos y tratamiento

Para el tratamiento de los fitolitos deben considerarse los caracteres biogénicos de los mismos (sensu Bertoldi de Pomar, 1975), los cuales dependen de las plantas proveedoras, la concentración de fitolitos en las plantas y las distintas etapas fenológicas del vegetal, los tipos de tejidos y células en que se originan, los mecanismos de depositación, la composición química y las propiedades físicas de los fitolitos. Las depositaciones, pueden ser: **cristalinas** (generalmente de menor tamaño que el celular) las cuales se dan en los ráfides, drusas, elementos prismáticos y arenas de cristales (en los calcifitolitos), formas básicas que se utilizan para su diferenciación conjuntamente con sus dimensiones; y **amorfas** (que pueden tener menor tamaño que el celular, colmar el espacio de la célula o espacios intercelulares o formar elementos cuyo origen es multicelular) como se observa en los silicofitolitos, pudiendo entonces

conservar caracteres anatómicos de acuerdo a su origen, que se utilizan en su descripción y/o tratamiento sistemático –anatomical naming–.

De acuerdo a lo tratado por el Comité Internacional de Taxonomía de Fitólitos (ICPT, International Committee for Phytolith Taxonomy, Bruselas 2014), existen tres formas principales de tratamiento de los fitólitos: la anatómica, como fuera mencionado, la morfológica en la cual se describen los morfotipos y sus características constitucionales; y una tercera que reúne las propuestas clasificatorias y pautas de tratamiento que consideran a los fitólitos de un modo taxonómico, vale decir, dándole un carácter de entidad sistemática. En estas últimas propuestas hay autores que vinculan a los tipos fitolíticos con las especies vegetales considerándolos parte de ellas, y otros, que le dan un carácter independiente a los mismos considerándolos parataxa (propuestas ortotaxonómicas y parataxonómicas respectivamente sensu Zucol et al. 2010c). En la actualidad el ICPT se encuentra trabajando en la tarea de “armonizar” las diferentes propuestas anatómicas, morfológicas y taxonómicas con la finalidad de establecer una nueva edición del Código Internacional de Nomenclatura fitolítica (ICPNWG 2005).

Desde el punto de vista morfométrico y considerando sus formas y su anatomía, los fitólitos pueden ser clasificados en **irregulares y regulares** (Mulholland y Rapp, 1992). Entre los elementos regulares, las formas cónicas, prismáticas, cilíndricas, piramidales y esféricas son las más abundantes; si bien gran parte de los fitólitos regulares pueden interpretarse como cuerpos prismáticos (paralelepípedos). Las vistas diferenciales de los fitólitos podrían ser establecidas de acuerdo al patrón anatómico de distribución del tejido en que se producen, pero no todos los fitólitos hallados en forma dispersa permiten reconocer su ubicación anatómica de origen. Si bien de contar con estas pautas topográficas de inserción tisular (Rudall et al. 2014), la mayoría de los elementos (principalmente los que copian la caja celular donde se originaron) presentan la posibilidad de establecer su orientación en el tejido, delimitando ejes y esto brinda también la posibilidad de establecer e identificar las caras de los cuerpos.

Las caras para los elementos prismáticos, siguiendo los conceptos anatómicos, son denominadas (Figura 4): *periclinales*, a las caras dispuestas en forma paralela a la superficie del órgano vegetal y *anticlinales* a las que se disponen en forma perpendicular a la superficie del órgano en donde se originó, pudiendo ser *anticlinales radiales*, si se disponen paralelamente al eje longitudinal del órgano o *anticlinales transversales* si se disponen en forma perpendicular a este eje. Por otra parte, otros tipos como los cónicos poseen una *vista basal* y otra *lateral*, al igual que los piramidales, los cilíndricos una única *vista lateral* y dos *vistas de sección*, mientras que los esféricos poseen una sola vista.

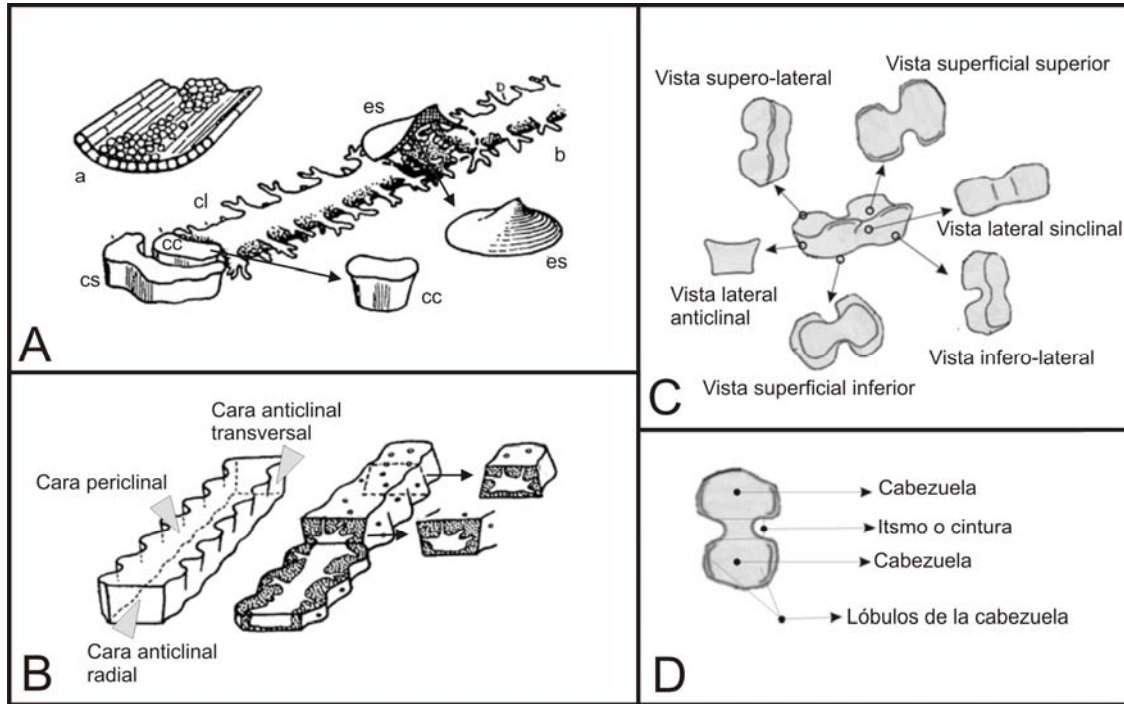


Figura 4. Caracteres morfométricos de los silicofitolitos. **A.a.** Representación esquemática de depositación de sílice esponjoso formado a partir de la aglomeración de pequeños cuerpos de sílice. **A.b.** Representación de fitolito prismático de contorno dendriforme (cl), asociado con fitolito originado en una célula corta (cc) del tipo de los conos truncados, una célula suberosa (cs) y un elemento escutiforme (es) o gancho. **B.** Caras y cortes de un fitolito de acuerdo a su ubicación en el tejido epidérmico. **C.** Esquema de las diferentes posibles vistas de un fitolito halteriforme. **D.** Partes que componen un fitolito halteriforme. (A y B modificados de Parry y Smithson 1966).

La correcta delimitación de las distintas vistas y de sus características cuali-cuantitativas, permite una clara diferenciación taxonómica de los morfotipos y evita el tratamiento sistemático de los fitolitos como “figuras planas”, que en muchos casos solo incrementan el natural fenómeno de multiplicidad de los fitolitos, creando morfotipos a partir de las distintas vistas de un mismo cuerpo. Ya que para el caso de los fitolitos (y en especial para los silicofitolitos) un mismo tipo morfológico puede ser hallado en diferentes ortotaxa, mientras que un mismo ortotaxon puede poseer distintos tipos morfológicos en sus tejidos. Este fenómeno, fue descrito por Rovner (1971) y Rovner y Russ (1992) y definido en dos conceptos: la multiplicidad (que es consecuencia de la presencia de diferentes tipos morfológicos en un mismo ortotaxon) y la redundancia (que surge de la presencia de similares tipos morfológicos en diferentes ortotaxa).

4. Los estudios de fitolitos en América latina

En 1675, Loeuwenhoek, realiza el primer reporte acerca de la presencia de fitolitos de calcio en plantas (citado en Mulholland y Rapp 1992); más tarde, Franceschi y Horner (1980) publican uno de los primeros trabajos en relación a la formación y relevancia de estas biomineralizaciones en plantas. Las cactáceas, además de ser nativas del continente americano, representan una de las familias con mayor producción de estas biomineralizaciones del continente (Franceschi y Nakata 2005), por lo que ha sido uno de los grupos más estudiados. Los antecedentes en referencia a los calcifitolitos en Sudamérica son escasos y se encuentran mayoritariamente en el marco de estudios orientados a las descripciones anatómicas generales, por lo que se restringen a la descripción de estos cristales en distintos órganos vegetativos y reproductivos de ciertos taxones vegetales (Keating 2004; Lersten y Horner 2008a, 2008b). En México, se ha descrito la presencia de elevada densidad de cristales de oxalato de calcio en tallo y raíz de *Geohintonia mexicana*, especie endémica del estado de Nuevo León (Borrelli et al. 2008a). En Argentina, en ambientes lacustres y de marismas particularmente en la Llanura Pampeana, se han realizado trabajos de la producción de cristales de oxalato de calcio en especies arbóreas introducidas como *Acacia melanoxylon* y *Eucalyptus globulus* (Borrelli et al. 2009), y en especies acuáticas como *Alternanthera philoxeroides*, *Ludwigia peploides*, *Polygonum hydropiperoides*, *Rumex crispus* y *Typha latifolia* (Borrelli et al. 2011; Altamirano et al. 2014), y en diferentes especies endémicas de la familia Chenopodiaceae (Perez Cuadra y Hermann 2013). Los registros de estas biomineralizaciones en suelos son muy escasos dada su alta susceptibilidad a la disolución; en general, los reportes corresponden a registros pedoarqueológicos (Reinhard y Bryant 1992; Canti 2003). En lo que respecta a la aplicación de silicifitolitos como bioindicadores en Sudamérica los primeros registros fueron descritos por Ehrenberg (1854), quien los encuentra en muestras coleccionadas por Charles Darwin. En este trabajo, se analizan sedimentos de Monte Hermoso (Bahía Blanca), limos asociados a mamíferos fósiles (Bahía Blanca), superficies dentarias de un Mastodon (Santa Fe) y raíces de plantas de Patagonia. Posteriormente, durante 1895-1925 los casos de estudios resultan nulos para Latinoamérica, siendo recién entre 1925 y 1955, que Frenguelli (1925, 1930, 1955) realiza sus contribuciones estudiando específicamente los fitolitos de limos de la región pampeana argentina y los compara con los presentes en la vegetación herbácea de esta región. Las contribuciones de este autor inspiraron a muchos investigadores que realizarán estudios de orientación ecológica entre los años 1955-1975, e inclusive a los que realizarían estudios arqueológicos y paleoecológicos a partir de 1971 en América Latina.

Directamente influenciada por J. Frenguelli es que Hetty Bertoldi de Pomar entre los años 1969 a 1983 (Bertoldi de Pomar 1969a, 1969b, 1970a, 1970b, 1973, 1974, 1983; Bertoldi de Pomar y Tur 1970), realiza sus investigaciones en suelos, depósitos fluviales y lagunares de diferentes regiones de Argentina. Mientras que en forma coetánea en Brasil se inician estudios fitolíticos con hincapié en la vegetación del

Cerrado, y en particular en las gramíneas de esta flora (Labouriau 1983, y referencias en este). Etapa que se puede observar en distintas regiones del mundo, como el caso de Australia, Japón, Europa y América del Norte, con el desarrollo de diferentes aplicaciones de la especialidad que serán desarrolladas en las últimas décadas. A continuación durante las siguientes décadas, estos conocimientos comienzan a ser aplicados en estudios sedimentarios y limnológicos, como así también, en análisis de especies vegetales de Argentina, Brasil y Venezuela; siendo recién luego de 1990, que en Latinoamérica se destacan los aportes fitolíticos en estudios paleoecológicos (cuenca del río Amazonas, región pampeana), fitosociológicos (Páramo colombiano, Tierra del Fuego), limnológicos (Panamá, Argentina y Uruguay), etnobotánicos (Perú, Ecuador, Argentina, Uruguay y Colombia) y arqueológicos (México, Panamá, Ecuador, Perú, Brasil, Chile, Argentina y Uruguay) entre otros (Zucol et al. 2008 y referencias en este). Es así que en Argentina se desarrollaron estudios que abarcan distintas secuencias pedoestratigráficas terciarias y cuaternarias, depósitos limnológicos y suelos, de las regiones patagónica, pampeana, cuyana y del litoral de Argentina. También se incrementaron los análisis fitolíticos de vegetación de distintos puntos del país, como así también estudios en dietas y un paulatino incremento de los trabajos fitolíticos realizados en marcos arqueológicos, los cuales en la actualidad resultan los más abundantes con resultados que abarcan distintos tiempos y culturas de todo el país. Específicamente en relación a los estudios fitolíticos en ambientes acuáticos (lagos, lagunas, ríos, arroyos, marismas) actuales y pasados, en la región Pampeana se ha demostrado la importancia y representatividad de los silicofitolitos en suelos de ambientes acuáticos continentales y de marismas, como así también su rol en la biogeoquímica de los mismos. A su vez, se estudió la relación comunidades vegetales-suelos-humedales desde el punto de vista del aporte de silicofitolitos y su flujo a las distintas matrices dentro de los ciclos biogeoquímicos (Osterrieth 1998, 2004, 2006; Borrelli et al. 2008b, 2010, 2012). Mientras que en la región mesopotámica se han realizado estudios vinculados a ambientes fluviales (Patterer et al. 2013) en los cuales se ha logrado caracterizar fitolíticamente los distintos ambientes insulares de la región más austral del Paraná medio (Parque Nacional PreDelta), lo que demuestra que los análisis fitolítico resultan una herramienta útil para demarcar las diferencias composicionales de las diferentes unidades e identificar la fisionomía de la vegetación.

En Brasil, luego de los trabajos que dirigiera Labouriau, es recién para los noventa que se realizan investigaciones que comienzan como trabajos aislados, pero que en los últimos años se han consolidado con líneas de estudio que abarcan los fitolitos de la vegetación de distintos puntos de este país, estudios en suelos y depósitos recientes, como así también, de registros arqueológicos. La literatura fitolítica de Colombia indica que los estudios se inician en los noventa con análisis de su presencia en floras amazónicas, como así también en suelos del páramo y cordillera Oriental Andina, siendo con posterioridad que se comienzan a aplicar estos estudios en entornos arqueológicos. Mientras que en Chile, la aplicación del estudio de microrestos botánicos se incrementa en la última década, principalmente enfocada a los análisis de entornos

arqueológicos. En Ecuador, desde 1970, investigadores de la Universidad de Missouri, realizan estudios arqueológicos utilizando a los fitolitos como uno de los elementos para establecer la evolución de la agricultura y de las sociedades del Formativo de esta región; líneas de investigación que en la actualidad se están desarrollando en universidades del país. Del mismo modo ha ocurrido en Perú, en donde la principal orientación de los estudios de fitolitos ha sido su aplicación a entornos arqueológicos durante las pasadas décadas. Recientemente, este tipo de estudios fitolíticos basados en análisis florísticos para su posterior aplicación en estudios arqueológicos han sido efectuados también en la Guayana Francesa. Por último, en Uruguay desde los noventa se han realizado importantes contribuciones a la especialidad tanto en los estudios florísticos, limnológicos y paleolimnológicos, como así también orientados al estudio de yacimientos arqueológicos de los humedales de la región este de la República.

5. Perspectivas a futuro

El análisis de la literatura de la especialidad muestra que no solamente se ha incrementado la masa crítica de investigadores, sino que también, este incremento se refleja en la diversidad de aplicaciones que se están realizando en la actualidad (Figura 5), si bien podemos concluir que –al igual que a nivel mundial- en América del Sur el mayor incremento se ha manifestado en los análisis relacionados con materiales arqueológicos y entornos humanos, como así también, en la reconstrucción paleoambiental.

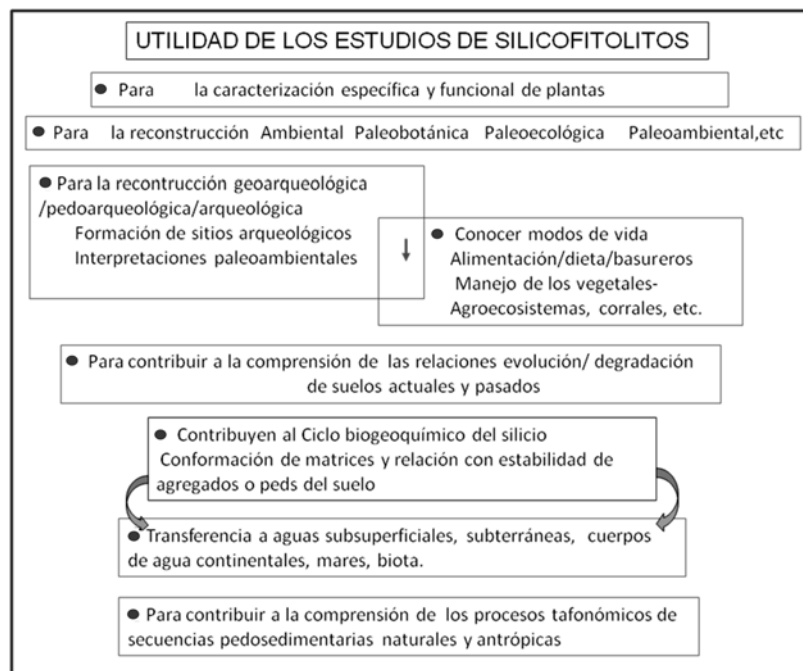


Figura 5. Tabla-esquema de utilidad y usos de fitolitos (modificado de Coe et al. 2014).

6. Agradecimientos

Esta contribución fue financiada en parte por PIP-CONICET 114 201001 00248 (AFZ) y PICT 1583 y UNMdP-EXA 643 (MO).

7. Referencias bibliográficas

- Altamirano S.M., Borrelli N., Osterrieth M., Fernández Honaine M. 2014. Distribución de biomineralizaciones de sílice amorfo y calcio en relación a la anatomía en especies de humedales pampeanos, Argentina. Actas XI Congreso Latinoamericano de Botánica.
- Álvarez M.F., Borrelli N., Osterrieth M., 2008. Extracción de silicobiolitos en distintos sedimentos utilizando dos técnicas básicas. In: Korstanje M.A., Babot, M. del P. (eds), Matices Interdisciplinarios en Estudios Fitolíticos y de otros Microfósiles. British Archaeological Reports (BAR) International Series S 1870, 31-38.
- Amos G.L. 1952. Silica in timbers. Bulletin of the common wealth scientific and industrial research organization, Australia, 267: 1-59.
- Baran E., Monje P.V. 2008. Oxalate biominerals. Metal Ions in Life Sciences, 4: 219-254.
- Bartoli F., Wilding L.P. 1980. Dissolution of Biogenic Opal as a Function of its Physical and Chemical Properties Soil Science Society America Journal 44:873-878.
- Bertoldi de Pomar H. 1969a La micropaleontología continental en los estudios edafológicos. V Reunión Argentina de Ciencias del Suelo, *Actas*: 727-730.
- Bertoldi de Pomar H. 1969b Partículas de sílice organizadas en sedimentos pampeanos de la llanura santafecina. IV Jornada Geológica Argentina, *Actas*. Mendoza.
- Bertoldi de Pomar H. 1970a. Fitólitos y zoolitos. Su significado geológico en sedimentos continentales. Asociación Geológica de Córdoba, *Boletín* 1(1): 21-31.
- Bertoldi de Pomar H. 1970b. *Caracterización micropaleontológica de sedimentos y suelos aluviales del Paraná Medio*. II Jornadas de la Cuenca del Plata, Santa Fe.
- Bertoldi de Pomar H. 1973. Crisostomatáceas en sedimentos de fondo de la laguna Guadalupe. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral, *Revista* 4: 73-86.
- Bertoldi de Pomar H. 1974. Silicobiolitos en sedimentos de cauce fluviales correntinos. I Congreso Argentino de Paleontología y Bioestratigrafía, *Actas*: 633-639.
- Bertoldi de Pomar H. 1975 Los silicofitolitos: Sinopsis de su conocimiento. Darwiniana 19 (2-4):173-206.
- Bertoldi de Pomar H. 1976. Métodos de preparación de sedimentos clásticos para su estudio microscópico. 1. Tratamientos previos. Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral 7: 1-55.
- Bertoldi de Pomar H. 1983. Silicobiolitos en sedimentos del cauce del Río Paraguay. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral, *Revista* 14 (1): 53-62.
- Bertoldi de Pomar H., Tur N.M. 1970. Células silicificadas en gramíneas acuáticas. Asociación de Ciencias Naturales del Litoral, *Revista* 1: 17-18.
- Blackman E. 1971. Opaline silica bodies in the range grasses of southern Alberta. Canadian Journal of Botany 49:769-781.
- Blackman E., Parry, D.W. 1968. Opaline silica deposition in rye (*Secale cereale* L.). Annals of Botany 32:199-206.

- Borrelli N., Osterrieth M., Soria Colunga J.C. 2008 a. Calcium oxalate crystals in *Geohintonia mexicana* (Cactaceae: Cactoideae). 7th International Meeting on Phytolith Research – 4th South American Meeting on Phytolith Research: 5.
- Borrelli N., Osterrieth M., Marcovecchio J. 2008 b. Interrelations of vegetal cover, silicophytolith content and pedogenesis of Typical Argiudolls of the Pampean Plain, Argentina. *Catena*, 75(2): 146-153.
- Borrelli N., Osterrieth M., Marcovecchio J. 2009. Calcium biominerals in typical Argiudolls from the Pampean Plain, Argentina: an approach to the understanding of their role within the calcium biogeochemical cycle. *Quaternary International* 193: 61–69.
- Borrelli N., Alvarez M. F., Osterrieth M., Marcovecchio J. 2010. Silica content in soil solution and its relation with phytolith weathering and silica biogeochemical cycle in Typical Argiudolls of the Pampean Plain, Argentina - A preliminary study. *Journal of Soil and Sediments*, 10: 983-994.
- Borrelli N., Fernández Honaine, M., Altamirano S. M., Osterrieth M. 2011. Calcium and silica biomineralization in leaves of eleven aquatic species of the Pampean Plain, Argentina. *Aquatic Botany*, 94: 29-36.
- Borrelli N., Osterrieth M., Romanelli, A., Alvarez, M.F., Cionchi J. L., Massone H. 2012. Biogenic silica in wetlands and their relationship with soil and groundwater biogeochemistry in the Southeastern of Buenos Aires Province, Argentina. *Environmental Earth Science*, 65(2): 469-480.
- Bowdery D. 1999. Taphonomy, phytoliths and the African dust Plumes. In: Mountain M.-J., D. Bowdery (eds.), *Taphonomy: The analysis of processes from phytoliths to megafauna*. ANH Publication. The Australian National University, Canberra: 3-8.
- Canti M.G. 2003. Aspects of the chemical and microscopic characteristics of plant ashes found in archaeological soils. *Catena*, 54: 339-361.
- Coe H.H., Osterrieth M., Fernández Honaine M. 2014. Phytoliths and their applications. In: Gomes Coe H., Osterrieth M. (eds). *Synthesis of some phytolith studies in South America*. Nova Publishers, New York: 1-26.
- Coil J., Korstanje M.A., Archera S., Hastorf C.A. 2003. Laboratory goals and considerations for multiple microfossil extraction in archaeology. *Journal of Archaeological Science*, 30: 991-1008.
- De Campos A.C., Labouriau, L.G. 1969. Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. 2. Pesquisa Agropecuária Brasileira -sec. Botânica: 143-151.
- Dizeo de Strittmater C.G. 1973. Nueva técnica de diafanización. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 15(1): 126-129.
- Ehrenberg C.G. 1854. *Mikrogeologie*. Leipzig. I, p. I XXVIII et 1–374; Suppl. (s. 1. n. d.) p. 1–88; II, Atlas, p. 1.31, P1. 1.34. 35A, 35B, 36-40.
- Epstein E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of National Academy of Sciences* 91: 11-17.
- Epstein E. 1999. Silicon. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Molecular Biology* 50: 641-664.
- Fernández Honaine M., Osterrieth M.L., Zucol A.F. 2009. Plant communities and soil phytolith assemblages relationship in native grasslands from southeastern Buenos Aires province, Argentina. *Catena*, 76: 89-96.
- Franceschi V., Nakata P. 2005. Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56: 41-71.

- Franceschi, V. R., Horner jr H.T. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. *Bot. Rev.* 46: 361-427.
- Fredlund G.G. 1986. Problems in the simultaneous extraction of pollen and phytoliths from clastic sediments. In: Rovner I. (ed.), *Plant Opal Phytolith Analysis in Archaeology and Paleoecology: Proceedings of the 1984 Phytolith Research Workshop, Occasional Papers N° 1 of the Phytolitharien*: 102-111, Raleigh, North Carolina State University.
- Frenguelli J. 1925. Loess y limos pampeanos. *Sociedad Argentina de Estudios Geográficos, Anales*. GAEA 1: 1-88.
- Frenguelli J. 1930. Partículas de sílice organizada en el loess y en los limos pampeanos. Células silíceas de Gramíneas. *Sociedad Científica de Santa Fe, Anales* 2: 1-47.
- Frenguelli J. 1955. Loess y limos pampeanos. Ministerio de Educación de la Nación, Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, *Serie técnica y didáctica* 7: 3-88.
- Graustein W.C., Cromack K., Sollins P. 1977. Calcium oxalate: Occurrence in soils and effects on nutrient and geochemical cycles. *Science*: 1252-1254.
- Handreck K.A., Jones L.H.P. 1968. Studies on silica in the oat plant IV Silica content of plant parts in relation to stage of growth, supply of silica and transpiration. *Plant and Soil* 29, 449-459.
- Hayward D.M., D.W. Parry. 1973. Electron-probe microanalysis studies of silica distribution in barley (*Hordeum sativum* L.). *Annals of Botany* 37: 579-591.
- Hodson M.J., White P.J., Mead A., Broadley M.R. 2005. Phylogenetic Variation in the Silicon Composition of Plants. *Annals of Botany* 96: 1027–1046.
- ICPN Working Group: Madella M., Alexandre A. y Ball T. 2005. International Code for Phytolith Nomenclature 1.0. *Annals of Botany* 96: 253-260.
- Jones J.G. 1988. Un procedimiento simplificado para la extracción de fitolitos silíceos y de oxalato de calcio a partir de tejidos vegetales. *Phytolitharien Newsletter*, 5(3): 9-10.
- Jones R.L., Beavers A.H. 1963. Some mineralogical and chemical properties of plant opal. *Soil Science* 96: 375-379.
- Jones L.H.P., Handreck K.A. 1967. Silica in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy*, 19: 107-149.
- Jones L.H.P., Milne A.A. 1963. Studies of silica in the oat plant: I. Chemical and physical properties of the silica. *Plant Soil* 18: 207-220.
- Keating R.C. 2004. Systematic Occurrence of Raphide Crystals in Araceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 91(3): 495-504.
- Kondo R., Sase T., Kato, Y. 1987. Opal phytolith analysis of andisols with regard to interpretation of paleovegetation. En: D.I. Kinloch (ed.) *Proceedings of the Ninth International Soil Classification Workshop*: 520-534.
- Labouriau L.G. 1983. Phytolith work in Brazil, A minireview. *The phytolitharien Newsletter* 2 (2): 6-11.
- Lanning F.C. 1963. Plant constituents: Silicon in rice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 11 (5): 435-437.
- Lanning F. C., Ponnaiya R.W.X., Crumpton C.F. 1958. The chemical nature of silica in plants: *Plant Physiol.* 33: 339-343.
- Lersten N., Horner H. 2008a. Subepidermal idioblasts and crystal macropattern in leaves of *Ticodendron* (Ticodendraceae). *Plant. Syst. Evol.*, 276: 255-260.

- Lersten N., Horner H. 2008b. Crystal macropatterns in leaves of Fagaceae and Nothofagaceae: a comparative study. *Pl. Syst. Evol.* 271: 239-253.
- Lewin J., Reimann, B.E.F. 1969. Silicon and Plant Growth. *Annual Review of Plant Physiology* 20: 289-304.
- Li Z., Lin P., He J., Yang Z., Lin Y. 2006. Silicon's organic pool and biological cycle in moso bamboo community of Wuyishan Biosphere Reserve. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*, 7(11): 849-857.
- Madella M., Lancelotti C. 2012. Taphonomy and phytoliths: A user manual. *Quaternary International* 275: 76-83.
- Massey F.P., Roland Ennos A., Hartley S.E. 2007. Grasses and the resource availability hypothesis: the importance of silica-based defenses. *Journal of Ecology*, 95: 414-424.
- McNaughton S.J., Tarrants J.L., McNaughton M.M., Davis R.H. 1985. Silica as a defense against herbivory and a growth promotor in African grasses. *Ecology* 66(2): 528-535.
- Molano-Flores B. 2001. Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). *Annals of Botany*, 88: 387-391.
- Mulholland S.C., Rapp G. 1992. A morphological classification of grass silica-bodies. In: Rapp G., Mulholland S.C. (eds.), *Phytolith systematics*. Plenum Press, New York: 65-89.
- Monje P.V., Baran E.J. 2002. Characterization of calcium oxalates generated as biominerals in cacti. *Plant Physiology* 128:707-713.
- Osterrieth M. L. 1998. Paleosols and their relation to sea level changes during the Late Quaternary in Mar Chiquita, Buenos Aires, Argentina. *Quaternary International* (51-52): 43-44.
- Osterrieth M. 2004. Biominerales y Biomineralizaciones. *Cristalografía de Suelos*. Sociedad Mexicana de Cristalografía: 206-218.
- Osterrieth M. L. 2006. Ciclo biogeoquímico del Silicio: Biomineralizaciones silíceas. Medioambiente en Iberoamérica. J. Gallardo Lancho Ed. T(II): 583-590.
- Osterrieth M. 2008. Silicofitólitos en suelos, paleosuelos y materiales parentales. En: Zucol A.F., Osterrieth M., Brea M. (eds). *Fitólitos. Estado actual de sus conocimientos en América del Sur*: III. 75-85.
- Osterrieth M., Oyarbide F., Bordas V. 2000. Biominerales de oxalato de calcio en suelos de Laguna de Los Padres, Buenos Aires. *Revista Argentina Ciencia del Suelo*, 18(1): 50-58.
- Osterrieth M., Madella, M., Zurro D., Álvarez M.F. 2009. Taphonomical aspects of silica phytoliths in the loess sediments of the Argentinean Pampas. *Quaternary International* 193, 70-79.
- Osterrieth M., Alvarez M.F., Borrelli N., Fernández Honaine M. 2012. The influence of plant silica biomineralizations (silicophytoliths), in the soil matrix construction, in pampean plain soils affected by agricultural practices. *EUROSOIL*, 4th International Congress Soil Science for the Benefit for the Mankind and Environment. Symposium Silicon cycle in agricultural soils versus forest soils.
- Osterrieth M., Fernández Honaine M., Borrelli N., Alvarez M.F. 2014. Silicophytoliths in representative soils of the Southeast Pampean Plains, Argentina. In: Gomes Coe H. y Osterrieth M. (eds.), *Synthesis of some phytolith studies in South America*. Nova Publishers, New York. p 215-242.
- Parr J. F., Sullivan L.A. 2011. Phytolith occluded carbon and silica variability in wheat cultivars. *Plant Soil* 342:165-171.

- Parry, D.W., Smithson F. 1958. Silicification of bulliform cells in grasses. *Nature* 181: 1549-1550.
- Parry D.W., Smithson F. 1964. Types of opaline silica depositions in the leaves of british grasses. *Annals of Botany* 28 (109): 169-185.
- Parry D.W. y Smithson. 1966. Opaline silica in the inflorescences of some British Grasses and Cereals. *Annals of Botany* 30 (119): 525-538.
- Patterer N.I., González C.A., Passeggi E., Zucol A.F. 2013. Análisis fitolíticos en depósitos de ambientes fluviales del río Paraná en su sección media (Entre Ríos, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 48(1): 91-102.
- Pearsall D.M. 2000 F. *Paleoethnobotany: A handbook of procedures*. Academic Press, San Diego.
- Pérez Cuadra V., Hermann P. 2013. Characterization and macropattern of calcium oxalate phytoliths in Argentinean endemic species of Chenopodioideae (Amaranthaceae). *Quaternary International*, 287: 83-88.
- Pinilla A., Palomar M.L., Aleixandre T., Martín A. 1997. Calcium oxalate crystals and their relationship with pedological calcium in Madrid region soils. *Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, monografías-4, Madrid*: 59-69.
- Piperno D.R. 1988. *Phytolith analysis. An archaeological and geological perspective*. Academic Press, San Diego.
- Piperno D.R. 2006. *Phytolith. A comprehensive guide for archaeologists and paleoecologists*. Altamira Press. Lanham. 238 pp.
- Prychid C.J., P.J. Rudall. 1999. Calcium Oxalate Crystals in Monocotyledons: A Review of their Structure and Systematics. *Annals of Botany* 84: 725-739.
- Reinhard K.J., V.M. Bryant. 1992. Coprolite Analysis: A Biological Perspective on Archaeology. *Natural Resources, School of Papers in Natural Resources, University of Nebraska*, pp 47.
- Rovner I. 1988. Fitólitos en las plantas: Un factor probable en los orígenes de la agricultura Estudios sobre la revolución neolítica y la revolución urbana, Coloquio V. Gordon Childe: 113-131. UNAM.
- Rovner I. 1971. Potential of opal phytoliths for use in paleoecological reconstruction. *Quaternary Research* 1: 345-359.
- Rovner I. 1972. Note on a safer procedure for opal phytolith extraction. *Quaternary Research*, 2 (4): 59l.
- Rovner I. 1990. Extracción de fitólitos de muestras de suelos. *Antropológicas*, 4: 49-53.
- Rovner I., Russ J.C. 1992. Darwin and design in phytolith systematics: morphometric method for mitigating redundancy. In: Rapp G. & Mulholland S.C. (eds.), *Phytolith Systematics*: 253-276. Plenum Press, New York.
- Rudall P.J., Prychid C.J., Gregory T. 2014. Epidermal patterning and silica phytoliths in grasses: An evolutionary history. *The Botanical Review* 80: 59-71.
- Runge F. 1998. The effect of dry oxidation temperature (500°C-800°C) and the natural corrosion on opal phytoliths. *Actas 2nd International Meeting on Phytolith Research*: 73.
- Sangster A.G. 1970 a. Intracellular silica deposition in immature leaves in three species of the Gramineae. *Annals of Botany* 34: 245-257.
- Sangster A.G. 1970 b. Intracellular silica deposition in mature and senescent leaves of *Sieglingia decumbens* (L.) Bernh. *Annals of Botany* 34: 557-570.
- Stebbins G.L. 1981. Coevolution of grasses and herbivores. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68:75-86.

- Stromberg C.A.E. 2004. Using phytolith assemblages to reconstruct the origin and spread of grass-dominated habitats in the Great Plains during the late Eocene to early Miocene: *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 207: 239-275.
- Sunell L.A., Healey P. L. 1985. Distribution of calcium oxalate crystal idioblasts in leaves of taro (*Colocasia esculenta*). *American Journal of Botany*, 72: 1854-1860.
- Teruggi M.E. 1955. Algunas observaciones microscópicas sobre vidrio volcánico y ópalo organógeno en sedimentos pampianos. *Notas del Museo de La Plata* 18, *Geología* 66: 17-26.
- Tomlinson P.B., Horn J.W., Fisher J.B. 2011. *The Anatomy of Palms. Arecaceae – Palmae*. Oxford University Press. 251 pp.
- Verrecchia E.P., Dumont J-L., Verrecchia K.E. 1993. Role of calcium oxalate biomineralization by fungi in the formation of calcretes: a case study from Nazareth, Israel. *Journal of Sedimentary Petrology* 63 (5): 1000-1006.
- Wilding L.P. 1967. Radiocarbon dating of biogenetic opal. *Science* 156: 66-67.
- Zucol A.F. 2001. Fitólitos. III. Una nueva metodología descriptiva. Asociaciones fitolíticas de *Piptochaetium montevidense* (Stipeae: Poaceae). *Boletín de las Sociedad Argentina de Botánica* 36: 69-85.
- Zucol A.F., Osterrieth M. 2002. Técnicas de preparación de muestras sedimentarias para la extracción de fitólitos. *Ameghiniana* 39: 379-382.
- Zucol A.F., Brea M., Passeggi E. 2008. Los Estudios Fitolíticos en América del Sur, una Visión Retrospectiva. In: Korstanje A. y Babot P. (eds.), *Matices Interdisciplinarios en Estudios Fitolíticos y de otros Microfósiles/ Interdisciplinary Nuances in Phytolith and other Microfossil Studies*. BAR (British Archaeological Reports) International Series S1870, Capítulo 9: 3-21. 218 pp. (Oxford, Inglaterra).
- Zucol A.F., Colobig M. de los M., Patterer N.I., Fernández Pepi M.G., Passeggi E., Brea M. 2010 a. Phytolith analysis for the Potrok Aike Lake Drilling Project: General methodologies for analysis. In: Corbella H. & Maidana N. I. (eds.). 1ª Reunión Internodos del Proyecto Interdisciplinario Patagonia Austral y 1er Workshop Argentino del Proyecto Potrok Aike Maar Lake Sediment Archive Drilling Project. Proyecto Editorial PIPA. Buenos Aires, Argentina. Programas y Resúmenes: 85-88. Buenos Aires.
- Zucol A.F., Passeggi E., Brea M., Patterer N.I., Fernández Pepi M.G., Colobig M. de los M. 2010 b. Phytolith analysis for the Potrok Aike Lake Drilling Project: Sample treatment protocols for the PASADO Microfossil Manual. In: Corbella H. & Maidana N. I. (eds.). 1ª Reunión Internodos del Proyecto Interdisciplinario Patagonia Austral y 1er Workshop Argentino del Proyecto Potrok Aike Maar Lake Sediment Archive Drilling Project. Proyecto Editorial PIPA. Buenos Aires, Argentina. Programas y Resúmenes: 81-84. Buenos Aires.
- Zucol A.F., Brea M., Bellosi E.S. 2010 c. Phytolith studies in Gran Barranca (Central Patagonia, Argentina) focused in the Middle Eocene. In: Madden R., Carlini A., Vucetich G. y Kay R. (eds.), *The Paleontology of Gran Barranca: Evolution and Environmental Change through the Middle Cenozoic of Patagonia*, : 313-336. Cambridge University Press.

Capítulo 5: Pigmentos sedimentarios

Andrea Lami, CNR-Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Verbania, Italia, a.lami@ise.cnr.it

Piero Guilizzoni, CNR-Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Verbania, Italia, p.guilizzoni@ise.cnr.it

Patricia Jana, Facultad de Ciencias Ambientales-Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Chile, pjana@udec.cl

Roberto Urrutia, Facultad de Ciencias Ambientales-Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Chile, rurrutia@udec.cl

Palabras claves: Derivados de clorofila, espectroscopia, sedimentos lacustres, variabilidad climática.

1. Introducción

Los pigmentos son moléculas capaces de captar la energía lumínica y transformarla en energía química mediante el proceso de la fotosíntesis, que es realizada por plantas, algas y algunas bacterias (Porra et al., 1997). Los principales pigmentos que absorben la radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés, *photosynthetic active radiation*) son clorofilas, carotenoides y ficobilinas. Los sedimentos lacustres normalmente preservan un amplio rango de estos compuestos (Leavitt y Hodgson, 2001), por lo que los pigmentos sedimentarios y sus derivados son utilizados en estudios paleolimnológicos, en los cuales la abundancia, producción y composición de las comunidades fototróficas del pasado son una variable-respuesta importante (Guilizzoni y Lami 2001). Por más de 30 años, limnólogos y paleoecólogos han examinado pigmentos fósiles en el sedimento de lagos. Las investigaciones pioneras en este tema son las de Vallentyne (1957) y Gorham (1974) en América del Norte y Belcher y Fogg (1964) en Gran Bretaña. Estos estudios describieron la presencia universal de derivados de clorofila y carotenoides, tanto en sedimentos superficiales como en testigos de sedimentos lacustres. Además demuestran que los lagos eutróficos presentan una mayor concentración de pigmentos que los lagos oligotróficos, lo cual permite que estos compuestos y los derivados de la clorofila (SCDP, por sus siglas en inglés, *sedimentary chlorophyll degradation products*), sean utilizados como indicadores de las condiciones tróficas pasadas. Posteriormente, Guilizzoni et al. (1983) proponen el SCDP como un índice de productividad lacustre. En la década de 1980, Züllig (1982) y Guilizzoni et al. (1986) reconocen el potencial de medir pigmentos de grupos biológicos específicos. Dentro de estos pigmentos están los carotenoides proveniente de los procariotas, los cuales pueden proporcionar información de ciertos taxa, de la química del agua, de la temperatura y de la interacción entre las distintas especies. Además establecen la base para cientos de investigaciones paleoecológicas en ecosistemas de agua dulce que han contribuido mucho en la interpretación de estudios relacionados con el clima del Holoceno y los cambios asociados a la vegetación. Estos estudios han ayudado a formular ideas acerca de las diferentes rutas evolutivas de los lagos y dispar

la noción de que los lagos siempre evolucionan desde un sistema oligotrófico a uno eutrófico (Brown et al. 1977; Wetzel y Manny 1978).

En los últimos años, se han expandido considerablemente los estudios de pigmentos en registros sedimentarios a nivel regional. Actualmente, existen estudios paleolimnológicos de pigmentos en Asia (incluida China), Rusia, América del Sur, Nueva Zelandia, Australia, el Ártico y la Antártica (Hodgson et al., 2004; Antoniades et al., 2007; Nedbalová et al., 2017). Lagos ubicados en áreas remotas del planeta, han proporcionado importantes registros para evaluar los cambios ambientales y el cambio climático (Catalan et al. 2013). Sin embargo, la mayoría de los lagos estudiados se encuentran en el hemisferio norte, aunque en el último tiempo se ha incrementado el número de trabajos en el hemisferio sur.

Presencia y distribución de los pigmentos

Las plantas vasculares, algas y bacterias sintetizan una variedad de compuestos orgánicos pigmentados, los cuales se utilizan en las reacciones fotosintéticas. La clorofila es el pigmento más eficiente en absorber la energía solar en la banda de absorción del color rojo, la cual no penetra en aguas profundas, por lo que las algas a lo largo de la columna de agua sintetizan diferentes pigmentos carotenoides, los que son utilizados como pigmentos accesorios, en la medida que van absorbiendo la luz solar en un rango más amplio del espectro. La clorofila-*a* se encuentra en todos los organismos acuáticos fotosintetizadores, con la excepción de algunas especies de bacterias autotróficas. Como se indica más adelante, sus productos de degradación (phaeophytina *a*, phaeophorbide *a*, chlorophyllide *a*) se preservan relativamente bien en sedimentos lacustres (Brown et al. 1977; Gorham et al. 1974; Sanger 1988).

Los carotenoides se encuentran ampliamente distribuidos en los organismos fotosintéticos (Davies 1976; Takaichi 2011) y también están presentes en los sedimentos lacustres. Los carotenoides pueden ser divididos en dos categorías, de acuerdo con su solubilidad en los diferentes solventes (e.g. Metanol y éter de petróleo): Epifásicos (carotenos) e hipofásicos (xantofilas). El caroteno principal es el β -caroteno, el cual está presente en todos los taxa algales. Las xantofilas amarillas tienen mayor diversidad que los carotenos, las más abundantes son la luteína, neoxantina y zeaxantina. Además, existen otras xantofilas específicas como son la fucoxantina y la diadinoxantina presentes en diatomeas, myxoxantofila y echinenona presentes en cianobacterias y oscillaxantina presente en la cianobacteria filamentosa *Oscillatoria* spp.

En muchos lagos meromícticos sulfurosos, las poblaciones de fotótrofos anaeróbicos prosperan en la interfase oxígeno-sulfuro (capa conocida como quimiolimnion), cuando el límite de la interfase está dentro de la zona fótica. Estos organismos incluyen las bacterias púrpuras y verdes del azufre (PSB y GSB, por sus siglas en inglés respectivas) (Overmann y van Gemerden 2000). En diversos ambientes

naturales, las GSB y las PSB son conocidas por producir carotenoides captadores de luz, tales como isorenierateno y okenona.

Pigmentos como biomarcadores

Estructura de los pigmentos

Las clorofilas (Chls) son compuestos complejos de magnesio de cuatro unidades pirrónicas arregladas cíclicamente con un quinto anillo isocíclico (Figura 1a). Existen cuatro grupos de Chls, de los cuales tres (Chls *a*, *b* y *c*) derivan de las algas y un grupo, las Bacterioclorofilas (Bchls), que es producido por bacterias fotosintéticas. Cada uno de estos grupos son modelados en la misma estructura básica, pero es posible distinguir variadas modificaciones. En los grupos de Chls *a* y *b*; Bchls *c*, *d*, y *e*, el pirrol D está reducido y la estructura del anillo es conocida como un chlorin. En la Chl *c*, D se mantiene insaturado (llamado porfirina), mientras que en Bchls *a* y *b*, ambos anillos, D y B, son reducidos (llamado bacteriochlorin).

Otra característica que distingue a los Chls es la presencia de una larga cadena de alcohol adjunta al anillo D (fitol presente en Chls *a*, *b* y Bchls *a* y *b*; farnesol en Bchls *c*, *d*, y *e*; ausente en Chls *c*). Sin embargo, todas las Chls tienen un átomo de magnesio en el anillo central.

En cuanto a los carotenoides, estos son un gran grupo de componentes caracterizados por poseer una larga cadena alifática. Esta cadena está compuesta por ocho unidades de isopreno (C₅H₈) para formar una larga estructura de doble enlace conjugado, el cromóforo (Figura 1b). Modificaciones en los grupos terminales (Figura 1b: A y B) de esta estructura básica permiten la formación de los distintos carotenoides. Las dos divisiones principales de los carotenoides son los carotenos, los cuales están compuestos únicamente por átomos de carbono e hidrógeno (e.g. β-caroteno), y las xantofilas, que contienen uno o más átomos de oxígeno (e.g. fucoxantina).

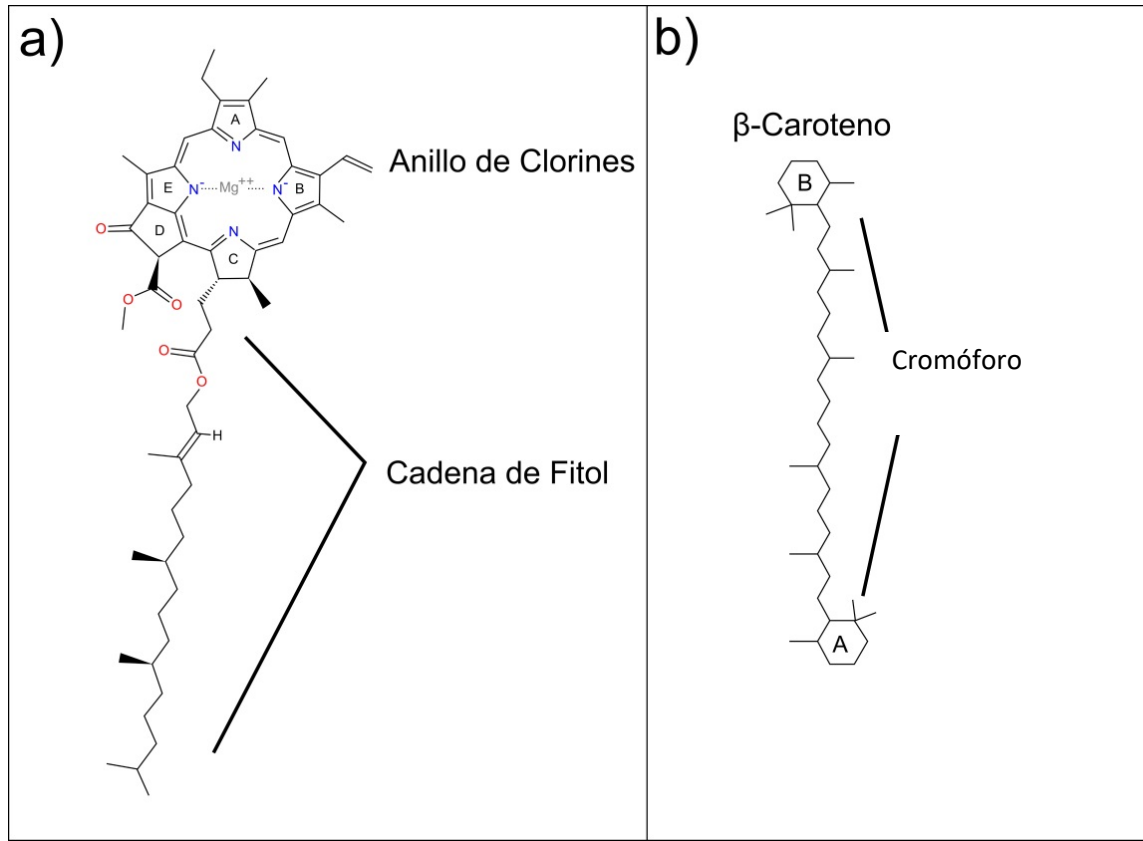


Figura 1. Estructuras químicas de **(a)** Chl a constituida por tetrapirroles cíclicos con un quinto anillo isocíclico (E) y cadena fitol, **(b)** típica estructura de un β -caroteno que contiene un enlace doble adjuntado a un cromóforo a cada final de los grupos funcionales

Más de 750 carotenoides están reportados en la naturaleza; en plantas terrestres, algas, bacterias, incluyendo cianobacterias y bacterias fotosintéticas, hongos y animales (Britton et al. 2004). A excepción de los animales, estos organismos fotosintéticos pueden sintetizar una amplia gama de carotenoides por diversas vías metabólicas. Estos carotenoides y rutas carotenogénicas pueden ser utilizados como marcadores quimiotaxonómicos (Jeffrey et al. 1997; Rowan 1989).

En la Tabla 1 se resumen los principales pigmentos (Chls y carotenoides) y su taxonomía específica.

Tabla 1. Resumen de los pigmentos sedimentarios principales, más estables y más informativos: fuentes de proveniencia y su uso como indicador en paleolimnología.

Pigmento	Taxa	Fuente	Indicador para:
Derivados de pigmentos sedimentarios, carotenoides totales, β -caroteno y feofitinas	Todas las plantas, algunas bacterias	Planctónico, terrestre, litoral (especialmente feofitina a)	Cambios en la cadena alimenticia, composición taxonómica gruesa, producción primaria y abundancia total de fotótrofos.
Feoformidos	Derivados de clorofila	Planctónico	Pastoreo de zooplancton
Astaxantina, astaceno	Zooplancton, algunas algas	Planctónico	Abundancia de zooplancton
Arilisoprenoides hidrocarbonos	Productos diagenéticos de los carotenoides	Terrestre	Paeoambientes, sedimentos ricos en materia orgánica; condiciones anóxicas.
Alloxantinas	Cryptophyta	Exclusivo plantónico	Nivel del agua
Dos pigmentos lípido solubles similares a Scytonemina	Algunas cianobacterias bénticas	Lagos alpinos	Ambientes de radiación UV acuática pasada
Echinenona	Cianobacterias	Planctónico, litoral	Eutrofización por fosfato
Mixoxantofila Oscillaxantina	Cianobacterias filamentosas	Planctónico	Eutrofización por fosfato
Aphanizofila	Cianobacterias fijadoras de N ₂	Planctónico	Eutrofización
Okenona, Isorenierateno	Chromatiaceae (<i>Chromatiumokenii</i>) Chlorobiaceae (sulfuro púrpura y verde, bacterias fotosintéticas, respectivamente)	Planctónico	Condiciones de anoxia y transparencia históricade disco Secchi
Sferoideno, Sferoidenono	<i>Rhodopseudomona sphaeroides</i>	Planctónico	Condiciones meromícticas/holomíctics
Ch1a: Faeofitina a; Ch1a: β -caroteno	Todas las algas	Planctónico, litoral, terrestre	Preservación de pigmentos

Preservación de los pigmentos y su aplicación en paleolimnología

El tema de los pigmentos como indicadores paleolimnológicos ha sido ampliamente discutido y revisado en reiteradas investigaciones: Guilizzoni y Lami (2001); Hodgson et al. (2004); Leavitt y Hodgson (2001). Los pigmentos contienen grupos cromóforos, los cuales absorben la luz visible y dan a sus moléculas su color característico. Los enlaces dobles y los grupos funcionales que poseen constituyen sitios de ataque para microorganismos, haciendo a estos compuestos muy sensibles a cambios diagenéticos.

A pesar de esta tendencia, algunos pigmentos pueden llegar a ser más estables, una vez que llegan al lago o se depositan en los sedimentos de los mismos. La aromatización completa del anillo tetrapirrólico de la Chls, el cual los transforma a porfirinas, y la hidrogenación del doble enlace C=C de los carotenoides, que forma alcanos isoprenoidales, son los principales cambios que tienden a estabilizar los pigmentos.

En relación a la preservación de pigmentos, muchos autores han apuntado a los diferentes comportamientos de los carotenoides y Chls (Gorham y Sanger 1967). En primer lugar, los pigmentos originados en la cuenca, usualmente no llegan intactos al lago. Los pigmentos de origen autóctono son también rápidamente degradados si no se incorporan rápidamente en los sedimentos lacustres. Por ejemplo, se encontró que la foto-degradación de los derivados de la Chls en la zona fótica en lagos del sur de Michigan fue completa después de tres días (Carpenter et al. 1986). Los carotenos se degradan más rápido que las Chls en el proceso de sedimentación, aunque en los sedimentos, los carotenos son mucho más estables que las Chls. No existen evidencias de que los carotenos se degraden una vez que se depositan en los sedimentos y, en caso de que pudieran experimentar una degradación, esta sería similar al resto de la materia orgánica. Los derivados de las Chls (feofitinas, feoforbides, clorofilides) son igualmente refractarios a la degradación y siempre son más abundantes que las Chls no degradadas, las que generalmente se presentan en altas cantidades en los sedimentos recién depositados.

La degradación de pigmentos es particularmente sensible a la presencia de oxígeno y luz. De hecho, su tasa de descomposición en sedimentos anóxicos es generalmente menor que la descomposición observada en la interface sedimento-agua en ambientes bien oxigenados, así como también un incremento en la actividad de organismos bentónicos (Hurley y Armstrong 1991; Yacobi et al. 1991). La foto-oxidación es el proceso de degradación más importante para los pigmentos que son depositados en los sedimentos lacustres. La vida media de los carotenoides y Chls es alrededor de 0.2 días, pero puede variar con relación a la composición fitoplanctónica y a la presencia de ácidos húmicos y compuestos que absorben luz (Carpenter et al. 1986; Leavitt y Carpenter 1990; Welschmeyer y Lorenzen 1985). La actividad de invertebrados bentónicos en lagos poco profundos (bioturbación) también podría ser importante, así como las condiciones físico-químicas y biológicas de la columna de agua.

Los sedimentos de lagos profundos, usualmente reciben menos luz o están completamente en la oscuridad, por lo que el oxígeno podría ser también escaso. Esta es la razón de porqué la degradación de pigmento a través de foto oxidación, así como la oxidación biológica es menor a la de los lagos poco profundos. En consecuencia, bajo condiciones donde la luz y el oxígeno son altas (p.e. lagos holomícticos poco profundos) los carotenoides y Chls son rápidamente transformadas a compuestos incoloros

(Krinsky 1979). Por el contrario, la preservación de pigmentos fósiles es mayor en lagos meromícticos (Romero et al. 2006).

La clorofila *a* se encuentra en todos los organismos fotosintéticos, con la excepción de algunas especies de bacterias autótrofas. Las Chls son susceptibles a la oxidación y degradación, conllevando a la formación de numerosos productos de degradación (Grimm et al. 2006; Jeffrey et al. 1997). Por ejemplo, la pérdida del átomo central del magnesio tiene como consecuencia la formación de feofitinas. La degradación de la cadena de fitol, usualmente producto de la acción de la encima clorofilasa, conlleva a la formación de chlorofilides. Una mayor degradación que cause la pérdida del Mg y de la cadena de fitol tiene como consecuencia la formación de feoforbides. Cada uno de estos productos de degradación es fácil de detectar en los extractos de pigmentos presentes en el sedimento lacustre y pueden ayudar a la interpretación estratigráfica. Las Bchls *c*, *d* y *e* son especialmente susceptibles a ser atacadas por grupos sustituyentes en los anillos B o C, conllevando a la formación de un número de homólogos que pueden hacer la cuantificación de Bchl, *a* partir de mezclas de pigmentos.

2. Metodología

Determinación espectrofotométrica

Después de la recolección del testigo de sedimento, pueden ocurrir procesos de degradación de pigmentos debido a la exposición a la luz, oxígeno y calor, por lo que es importante el cuidado y almacenamiento cuando se va a trabajar con pigmentos. Las muestras de pigmentos sedimentarios deben congelarse a -20 °C tan rápido como sea posible y almacenarlas congeladas y herméticas hasta el momento del análisis. El análisis de pigmentos presentes en las muestras de sedimento involucra: (i) extracción en solventes adecuados, (ii) separación de la mezcla de pigmentos, (iii) identificación de los pigmentos y (iv) cuantificación. Hoy en día, esto se logra a través de la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) y espectrofotometría con arreglo de diodos (PDA, por sus siglas en inglés). Estos análisis tienen una capacidad analítica superior dado a su rapidez y exactitud (revisado en Leavitt y Hodgson 2001; Roy et al. 2011).

Para la metodología de HPLC, la identificación de pigmentos en muestras de origen natural es primeramente realizado por una combinación del tiempo de retención y espectro de absorbancia comparados con estándares de pigmentos individuales (Figura 2). Sin embargo, comparado con muestras de la columna de agua, los cromatogramas de muestras de pigmentos sedimentarios contienen un mayor número de picos, incluyendo pigmentos desconocidos y pigmentos producto de la degradación, pudiendo ocurrir así, coelución. Los lagos con buenas condiciones de preservación, presentan

relativamente pocos picos indefinidos (Figura 3) en comparación a sistemas estuarinos, donde se puede encontrar una gran cantidad de picos indefinidos y productos de la degradación de la clorofila. La identificación de pigmentos en muestras de sedimentos se basa en dos criterios, el tiempo de retención y el espectro de absorbancia.

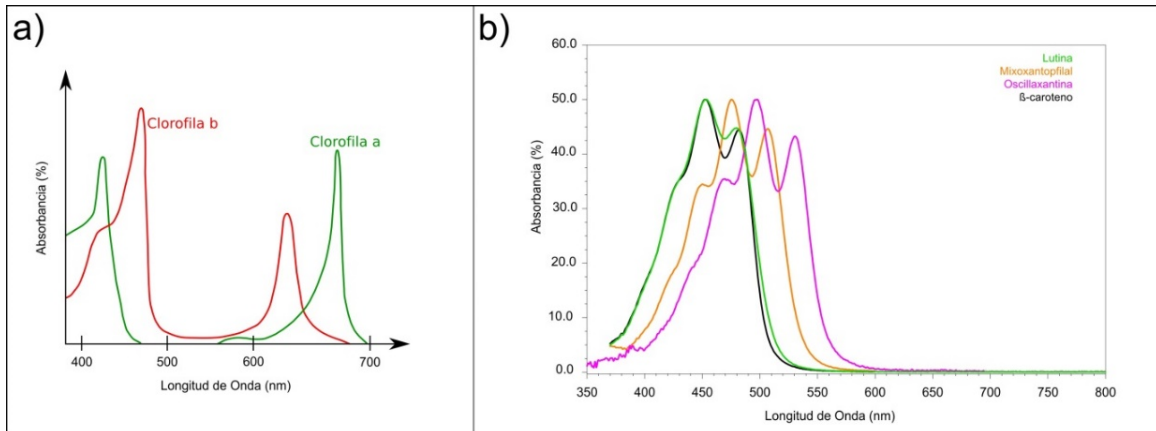


Figura 2. (a) Espectro de absorbancia de la Chls (<http://commons.wikimedia.org/wiki/>); **(b)** Espectro de absorbancia del estándar de carotenoides (extraído de HPLC DAD, Dionex Ultimate 3000).

La espectrometría de masa (MS), es una nueva técnica en línea que no requiere material extra y se sugiere como técnica para una identificación segura de los pigmentos provenientes del sedimento (Leavitt y Hodgson 2001). No obstante, esta técnica requiere de equipos costosos, que a menudo no se encuentran en muchos laboratorios. Descripciones detalladas de las técnicas de separación e identificación de los pigmentos mediante MS pueden ser encontradas en Jeffrey et al. (1997). Estas referencias también proveen descripciones de cómo cuantificar los pigmentos, las que son realizadas determinando un factor respuesta o curva estándar asociada a la concentración del área de un pico del estándar. Algunos de estos estándares están disponibles comercialmente o también pueden ser preparados a partir de cultivos (Jeffrey et al. 1997). Es altamente recomendable, además, incluir un estándar interno durante la extracción para normalizar las concentraciones de pigmentos, ya que reduce significativamente la variabilidad de los análisis.

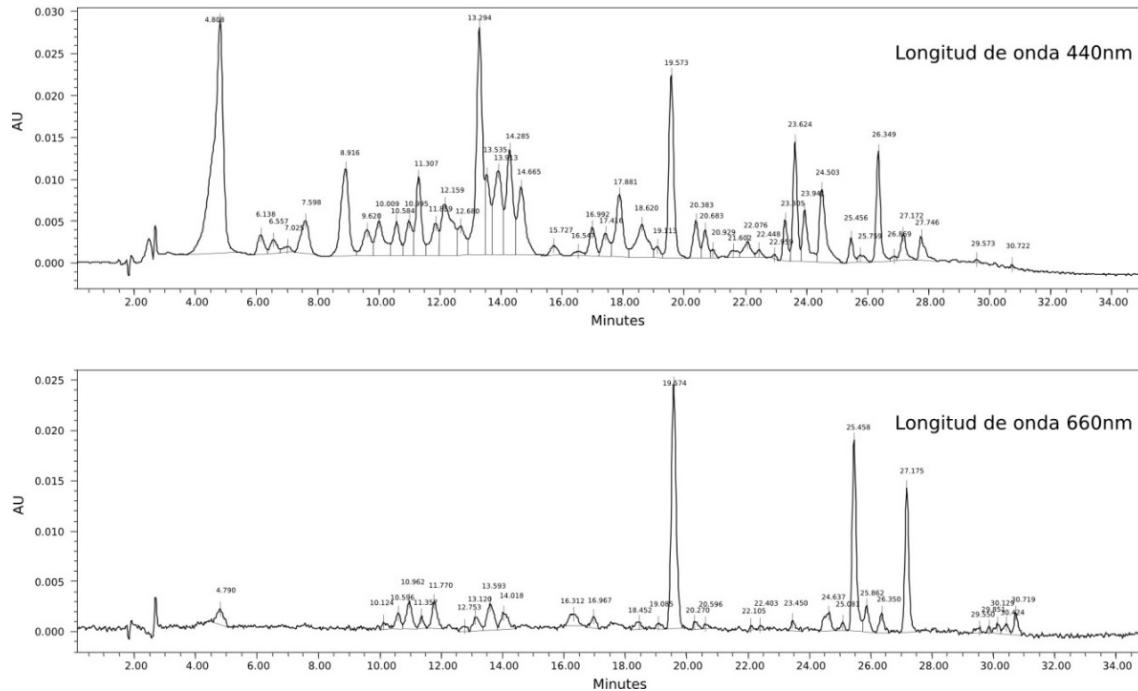


Figura 3. Ejemplo de un cromatograma típico realizado con la técnica de HPLC a dos longitudes de onda: 440 y 665 nm que maximizan la respuesta de carotenoides y Chls respectivamente.

Espectroscopia de reflectancia en la reconstrucción climática

Con el fin de establecer una nueva herramienta para la reconstrucción climática, se ha comenzado a aplicar la técnica de la espectrofotometría de reflectancia. El análisis de reflectancia en el rango del espectro visible e infrarrojo cercano (380 – 730 nm) es una técnica utilizada para identificar sustancias y minerales en los sedimentos con base en las propiedades de absorción del color. Es un método rápido, de alta resolución espacial (milimétrica), de bajo costo y no destructivo (Rein y Sirocko 2002; Grosjean et al. 2014). La gran ventaja de esta metodología es que, al no ser destructivo, permite utilizar las mismas muestras de sedimento para otros análisis, tales como la datación (Trachsel et al. 2013; Rein y Sirocko, 2002; Wolfe et al. 2006; Michelutti et al. 2009). Los primeros trabajos que emplearon la espectrofotometría de reflectancia, utilizaron esta técnica para establecer los cambios de color, y de intensidad de luz en el sedimento (Schneider et al. 1995; Hughen et al. 1996; de Berger et al. 1998).

Esta técnica, además de ser rápida, permite tener réplicas, lo que no es posible con otras técnicas analíticas. Sin embargo, su aplicación tiene algunas desventajas con relación a que los valores medidos no son sustancia-específicos y pueden ser influenciados por efectos de la matriz sedimentaria (contenido de agua, porosidad, etc.), limitando así, la interpretación de los resultados.

El uso potencial de la espectroscopía de reflectancia (380 – 730 nm) ha sido recientemente demostrado, siendo exitosamente utilizada para la determinación de: Carbonatos en sedimentos marinos (Balsam y Deaton 1996); minerales arcillosos (Rein y Sirocco 2002); especies químicas de hierro (Debret et al. 2011); carbón orgánico y pigmentos sedimentarios (Chls *a* y productos diagenéticos, carotenoides) (Rein y Sirocco 2002; Rein et al. 2005; Wolfe et al. 2006; Michelutti et al. 2010; Traschsel et al. 2013).

3. Aplicaciones de los pigmentos como paleoindicadores

Patagonia Central Argentina

Entre los primeros trabajos paleolimnológicos, realizados en Sudamérica, utilizando a los pigmentos como proxies ambientales, se encuentra el de Bianchi et al. (1997) realizado en el lago El Trébol (41 °S; 71 °O); este lago es parte de la Cuenca del lago Nahuel Huapi, localizado en el ecotono bosque-estepa que posee un fuerte gradiente de humedad. En este trabajo se describe la estratigrafía de un núcleo de sedimento de 11 m de largo, el cual provee un registro continuo de cambios paleoambientales que ocurrieron durante los últimos 14.000 años en el sur de Sudamérica. Usando técnicas geoquímicas, las cuales incluyen análisis elemental, materia orgánica total, macro nutrientes y pigmentos; combinados con quironómidos y conteo de polen, se identificaron tres zonas diferentes. La estratigrafía de los carotenoides específicos y totales, evidencia cambios en la abundancia de productores primarios a lo largo del núcleo de sedimento y un cambio en la composición de fitoplancton. La comunidad fitoplanctónica estuvo dominada por algas verde-azules o cianobacterias (Equinenona, Cantaxantina) entre los 700 y 300 cm del registro, mientras que las crisófitas (Fucoxantina, Diadinoxantina) fueron las dominantes entre los 0 y 200 cm. Los cambios observados en la composición algal coinciden con los observados en la composición vegetal y están en concordancia con cambios en las condiciones climáticas observadas en las cercanías de lago Mascardi (Aritzegui et al. 1997).

Esta zona también fue investigada por Guilizzoni et al. (2009) en el lago Hess (41°22'20" S, 71°44'00' O). En este estudio se realizaron análisis geoquímicos, litológicos, pigmentos y cápsulas cefálicas de quironómidos con el objetivo de realizar una reconstrucción paleoambiental y climática de los últimos tres siglos. El lago Hess está caracterizado por ser un lago oligotrófico frío, casi-prístino que recibe agua proveniente del derretimiento de las capas del glaciar Tronador. Los resultados de los análisis multi-proxy del núcleo de 83 cm de largo permitieron identificar tres fases de cambios principales. Desde el fondo hasta el centímetro 42 (ca. 1800 DC), el sedimento está compuesto de arcillas ricas en materia orgánica de color gris claro. Tanto los pigmentos como los quironómidos sugieren una tendencia variable en la productividad y en el régimen de precipitación. Al final del periodo correspondiente a la Pequeña Edad del Hielo (LIA, por sus siglas en inglés; 1770-1850 DC) la concentración de los

pigmentos fue muy baja. Entre los 42 y 25 cm (ca. 1800-1940 DC) el registro sedimentario está compuesto por fango negro y oscuro rico en materia orgánica con cantidades variables de restos de macrófitas. Un cambio brusco ocurre a los 25 cm (ca. 1940 DC), mostrando un gran incremento en el contenido de materia orgánica, nutrientes y pigmentos, junto a un cambio en la composición en el ensamble de quironómidos. Esto podría estar documentando cambios en el estado trófico del lago asociado con cambios en las tasas de erosión/deposición. Aunque existen registros de impacto antrópico en el área de estudio, los cuales involucran el uso del fuego, la mayoría de los cambios geoquímicos y biológicos observados en el lago Hess fueron interpretados en términos de cambios climáticos, especialmente en los cambios del balance de humedad influenciados por las variaciones en la fuerza de los vientos del oeste.

Región Pampeana (Pampa Argentina)

Un estudio reciente, el cual utilizó pigmentos fotosintéticos preservados en los sedimentos, ha sido publicado por Coianiz et al. (2014). Las planicies de la Pampa de Argentina central son particularmente interesantes para el estudio de la variabilidad paleoclimática durante el Cuaternario tardío. Esto porque esta zona ha sido sometida a cambios hidrológicos en años recientes (Piovano et al. 2009; Troin et al. 2012). Cambios climáticos en la Cuenca de la laguna Mar Chiquita ocasionaron cambios en la salinidad y estado trófico del lago, lo que a su vez, tuvo una influencia en la productividad primaria y, por lo tanto, en la acumulación de materia orgánica. Altos niveles del lago y una baja salinidad caracterizaron la Anomalía Climática Medieval (MCA, por sus siglas en inglés) así como el último cuarto del siglo XX y el comienzo del siglo XXI. Por el contrario, niveles extremadamente bajos y una alta salinidad en el lago, se asociaron al periodo de la Pequeña Edad del Hielo (LIA, por sus siglas en inglés). Análisis de alta resolución de pigmentos en estas dos fases temporales (LIA y MCA) no indicaron mayores cambios en la estructura de la comunidad fotosintética, lo cual significa que la biota sobrevive en un rango amplio de salinidad y temperatura. Altos niveles del lago (baja salinidad) se correspondieron con un incremento en la productividad primaria, lo cual se evidenció por las altas concentraciones de pigmentos y una disminución de los carbonatos autigénicos y las evaporitas. Estos intervalos de incremento en el nivel del lago, previamente han sido asociados a un clima más cálido y húmedo. Al contrario, bajos niveles de lago (condiciones hipersalinas) se correlacionaron con un decrecimiento en la productividad del lago y la precipitación tanto de los carbonatos autigénicos como las evaporitas. Estos sedimentos corresponden a intervalos más fríos con un balance negativo de la humedad. La similitud relativa entre LOM indicada por la estratigrafía de los pigmentos en ambos intervalos, no muestra evidencia clara de una relación entre impacto antrópico y productividad del lago. Por lo tanto, la laguna Mar Chiquita ha sido naturalmente productiva, incluso en periodos previos a la expansión de la agricultura de fines del siglo.

Chile Central

Otra técnica que se utiliza para cuantificar pigmentos es la espectroscopia de reflectancia, donde el total de pigmentos de Chls está determinados por el índice de Profundidad de Banda de Absorción Relativa (RABD, por sus siglas en inglés; Figura 4), el cual es definido como la relación entre el valor mínimo de reflectancia medido y el valor obtenido para la misma longitud de onda asumiendo una interpolación lineal continua entre los dos máximos a 590 y 730 nm (Rein y Sircko 2002; von Gunten et al. 2009). En la ecuación siguiente se presenta el algoritmo para la estimación del índice RABD.

$$RABD_{(660;670)} = ((6 * R_{590} + 7 * R_{730}) / 13) / R_{\min(660;670)}$$

Rein y Sirocko (2002) confirmaron mediante HPLC, que la presencia de pigmentos en los sedimentos está dominada principalmente por los derivados diagenéticos de la Chls. Las principales fuentes de pigmentos de Chls en sedimentos lacustres son algas y bacterias fototróficas. La mayor parte de los pigmentos de Chls son generados a partir de degradación de la Chls inestable (Rein y Sirocko 2002; 2005; von Gunten et al. 2009; De Jong et al. 2013). En particular, para estudios paleoclimáticos se han usado los pigmentos de Chls más estables (pigmentos diagenéticos) (Leavitt y Hodgson 2001).

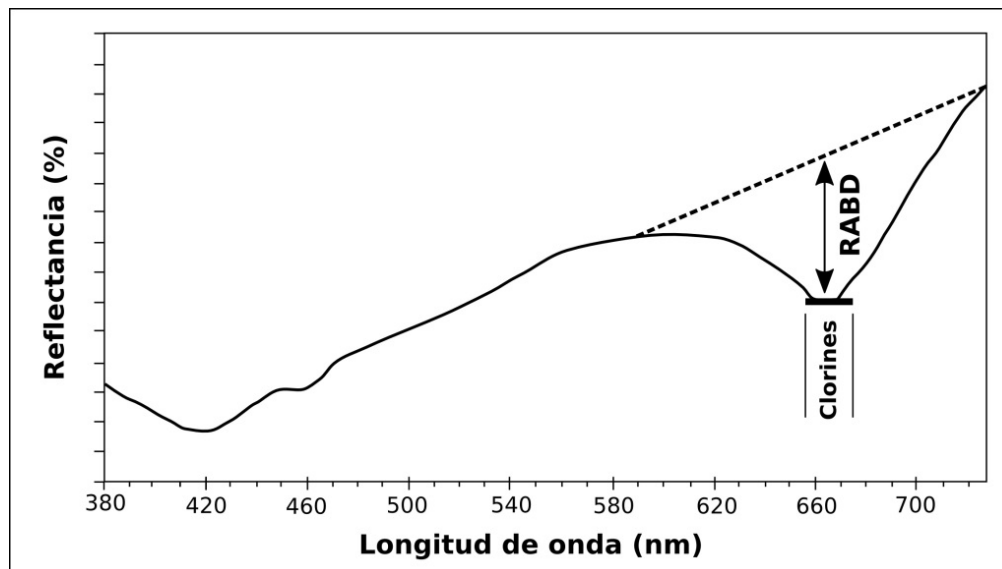


Figura 4. Diagrama esquemático para la evaluación de las bandas de absorción de los pigmentos de Chls (RABD). FUENTE: Rein y Sirocko 2002.

Para tener en cuenta el grado de diagénesis de los pigmentos de Chls, se desarrolló un segundo proxy que mide el cambio de absorción centrado en las bandas 660 y 670nm (Rein y Sirocko 2002). La curva de diagénesis decae en dichas longitudes de ondas tal como se muestra en la Figura 5.

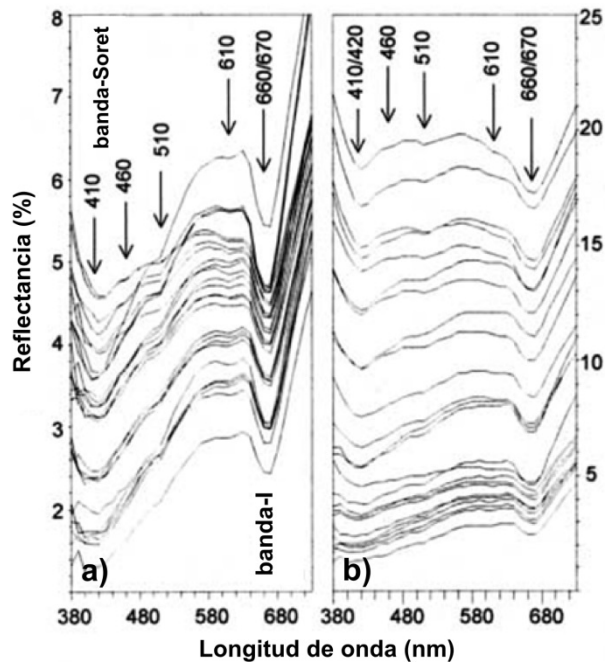


Figura 5. Diagrama esquemático para la evaluación de la curva de diagénesis. Los espectros en el lado izquierdo (a) son típicos para los sedimentos autóctonos, los de la derecha (b) son de sedimentos con mayores aportes mineralógicos.

Uno de los pioneros en utilizar estos indicadores en la reconstrucción de temperaturas durante el último milenio fue von Gunten et al. (2009), encontrando una buena correlación entre los derivados de clorofilas de los sedimentos lacustres y la temperatura de verano. Esta relación se basa en el supuesto que durante periodos con altas temperaturas se produce un aumento en la productividad primaria acuática, lo que se ve reflejado en una mayor cantidad de clorofilas y sus derivados en los sedimentos.

El primer trabajo efectuado en Sudamérica que utilizó espectroscopía de reflectancia, fue realizado por von Gunten et al. (2009) para la reconstrucción cuantitativa de la temperatura en Chile Central, utilizando testigos cortos (100 cm) de sedimento obtenidos en Laguna Aculeo (35°50'S; 70°54'O). Laguna Aculeo es un lago cálido polimíctico de 7 m de profundidad máxima, y que se encuentra en estado eutrófico/hipertrófico con un pH de 7,2. El lago es de origen tectónico y está ubicado en la cordillera de la Costa a 50 km al sureste de Santiago de Chile. Los núcleos utilizados presentaron un registro de alta resolución que alcanza el año 850 DC. Para medir los

productos diagenéticos de la clorofila, se utilizó la técnica de espectroscopía de reflectancia, donde se midieron las longitudes de onda a intervalos de 10 nm entre los 380 y 730 nm con un Spectrolino (Gretag Mcbeth, Suiza). Para determinar la concentración total de pigmentos de Chls, se utilizó el índice $RABD_{660;670}$ y para determinar el grado de diagénesis de Chls se utilizó la relación de reflectancia $R_{660/670}$. Estos índices se calibraron con los registros de temperatura del siglo XX disponibles para el área de estudio. Los datos de temperatura fueron obtenidos utilizando el modelo de datos reanalizados de la Unidad Climática de Investigación en Serie de Tiempo (CRU TS, por sus siglas en inglés) 2.1 de la Universidad de Anglia, con una resolución mensual durante el periodo 1901 a 2000 DC (Gisbert 2012). Los resultados de este estudio evidencian la presencia de la MCA y de la LIA en la zona central de Chile. La MCA se presenta como veranos más cálidos durante el periodo comprendido entre el 1150 y 1350 año DC ($\Delta T = +0.27$ a $+0.37$ °C con respecto al siglo XX). Por otro lado, la LIA comienza como un decrecimiento en las temperaturas entre 1350-1400 DC (-0.3 °C/10años) seguido de veranos fríos ($\Delta T = -0.70$ a -0.90 °C con respecto al siglo XX) hasta 1750 DC. Estos resultados fueron congruentes con otras reconstrucciones de temperaturas realizadas con anillos de árboles y reconstrucciones realizadas en la Patagonia septentrional. Finalmente, se concluyó que la técnica utilizada para calcular los índices de Chls total y el grado de diagénesis de la Chls, a partir de mediciones de espectroscopia de reflectancia, es una técnica robusta para realizar reconstrucciones climáticas cuantitativas. Otro trabajo que también utiliza los índices de $RABD_{660;670}$ y $R_{660/670}$ para la reconstrucción cuantitativa de temperatura, es el de Mardones (2014). Para este estudio se extrajo un núcleo de sedimento de la Laguna Chica de San Pedro (36°51'S; 73°06'O), ubicada a 5 km al sur de la ciudad de Concepción, en la Cordillera de Nahuelbuta. En este trabajo se obtienen resultados similares a los obtenidos por von Gunten et al. (2009) en la Laguna Aculeo, lo que reafirma la robustez de esta técnica para la realización de reconstrucciones cuantitativas de temperatura de alta resolución.

4. Perspectivas a futuro

Los ejemplos presentados anteriormente, demuestran el alto potencial que presentan los pigmentos sedimentarios lacustres en las reconstrucciones paleoambientales, particularmente la espectroscopia de reflectancia como una herramienta no destructiva para el análisis de los sedimentos. La ventaja de esta técnica es que permite generar rápidamente un gran número de datos a un bajo costo, lo cual es un prerequisite básico para el análisis de registros paleoclimáticos de alta resolución. Sin embargo, esta técnica necesita ser probada en distintos cuerpos lacustres, para evaluar su funcionamiento en distintos ambientes sedimentarios. Otro aspecto importante de destacar, es la falta de este tipo de estudios en la Región Neotropical, por lo que sería necesario incrementar la aplicación de estas técnicas en estudios paleoambientales, en combinación con los otros indicadores biológicos (enfoque multiproxy).

5. Agradecimientos

Dr. Urrutia y MSc. Jana agradecen el apoyo de los proyectos Fondecyt N°1120807 y Fondap CRHIAM 15130015.

6. Referencias bibliográficas

- Antoniades D., Crawley C., Douglas M., Pienitz R., Andersen D., Doran P., Hawes I., Pollard W., Warwick V. 2007. Abrupt environmental change in Canada's northernmost lake inferred from fossil diatom and pigment stratigraphy. VOL. 34, L18708, doi:10.1029/2007GL030947.
- Ariztegui D., Bianchi M., Massaferro J., Lafargue E., Niessen F. 1997. Interhemispheric synchrony of Late-glacial climatic instability as recorded in proglacial Lake Mascardi, Argentina. *Journal of Quaternary Science*, 12(4): 333–338. doi:10.1002/(SICI)1099-1417(199707/08)12:4<333::AID-JQS312>3.0.CO;2-0.
- Balsam W.L., Deaton B.C. 1996. Determining the composition of late Quaternary marine sediments from NUV, VIS, and NIR diffuse reflectance spectra. *Mar. Geol.* 134, 31-55.
- Debret M., Sebag D., Desmet M., Balsam W., Copard Y., Mourier B., Susperrigui A.-S., Arnaud F., Bentaleb I., Chapron E., Lalliers-Vergès E., Winiarski T., 2011. Spectrophotometric interpretation of sedimentary dynamics: the new "Q7/4 diagram". *Earth Sci. Rev.* 109, 1–19.
- Belcher J., Fogg G. 1964. Chlorophylls derivatives and carotenoids in the sediments of two English lakes. In *Recent Researches in the Field of Hydrospheres, Atmosphere and Nuclear Geochemistry* (pp. 39–48). Maruzen Tokyo.
- Berger W.H., Wefer G., Richter C., Party S.S. 1998. Color cycles in Quaternary sediments from the Congo fan region (site 1075): a statistical analysis. *Proc Ocean Drilling Program, Initial Rep* 175:561–567.
- Bianchi M., Massaferro J., Roman-Ross G., Tatur A., del Valle R., Amos A.J. 1997. The Pleistocene-Holocene boundary from cores of Lago El Trébol Patagonia, Argentina. *Paleolimnological evidences. Proceedings of the International Association for Theoretical and Applied Limnology*, 26 (1997), pp. 805–808.
- Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. 2004. *Carotenoids Handbook*. Basel, Switzerland: Birkhäuser.
- Brown S.R., Daily R.J., McNeeley R.N. 1977. Composition and stratigraphy of the fossil phorbins derivatives of Little Round Lake, Ontario. *Limnology and Oceanography*, 22: 1357– 1360.
- Carpenter S.R., Elser M.M., Elser J.J. 1986. Chlorophyll production, sedimentation and degradation: implications for paleolimnology. *Limnology and Oceanography*, 31: 112–124.
- Catalan, J., Pla-Rabés S., Wolfe A.P., Smol J.P., Rühland K.M., Anderson N.J., Kopáček J., Stuchlík E., Schmidt R., Koinig K.A., Camarero L., Flower R.J., Heiri O., Kamenik C., Leavitt P.R., Psenner R., Renberg I. 2013. Global change revealed by palaeolimnological records from remote lakes: a review. *Journal of Paleolimnology*, 49 (3): 513–535. doi:10.1007/s10933-013-9681-2
- Coianiz L., Ariztegui D., Piovano E.L., Lami A., Guilizzoni P., Gerli S., Waldmann N. 2014. Environmental change in subtropical South America for the last two

- millennia as shown by lacustrine pigments. *Journal of Paleolimnology*. doi:10.1007/s10933-014-9822-2
- Davies B.H. 1976. Carotenoids. In T. W. Goodwing (Ed.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments*. (pp. 38–165). Academic Press London, New York, San Francisco.
- De Jong R., Von Gunten L., Maldonado A., Grosjean M. 2013. Late Holocene summer temperatures in the central Andes reconstructed from the sediments of high-elevation Laguna Chepical, Chile (32°S). *Climate of the past* 9: 1921-1932.
- Gisbert F.J. 2012. Datos climáticos históricos para las regiones españolas. *CRU TS 2.1. Investigaciones de Historia Económica* 8, 29-40.
- Gorham E.J., Sanger, J.E. 1967. Plant pigments in woodland soils. *Ecology*, 48: 306–308.
- Gorham E.J., Lund W.G., Sanger J.E., Dean W.E. jr. 1974. Some relationships between algal standing crop, water chemistry and sediment chemistry in the English lakes. *Limnology and Oceanography*, 23: 777–784.
- Grimm B., Robert J.P., Wolfhart R., Scheer H. (Eds.). 2006. *Chlorophylls and bacteriochlorophylls: biochemistry, biophysics, functions and applications*. Dordrecht: Springer.
- Grosjean M., Amann B., Butz C., Rein B., Tylmann W. 2014. Hyperspectral imaging: a novel, non-destructive method for investigating sub-annual sediment structures and composition. *Pages Magazine Vol. 22 N° 1*: 10-11 pp.
- Guilizzoni P., Bonomi G., Galanti G., Ruggiu D. 1983. Relationship between sedimentary pigments and primary production: evidence from core analyses of twelve Italian lakes. *Hydrobiologia*, 103: 103–106.
- Guilizzoni P., Lami A., Ruggiu D., Bonomi G. 1986. Stratigraphy of specific algal and bacterial carotenoids in the sediments of Lake Varese (N. Italy). *Hydrobiologia*, 143: 321–325.
- Guilizzoni P., Lami A. 2001. Paleolimnology: use of algal pigments as indicators. In G. Bitton (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Microbiology* (pp. 2306–2317). Wiley J. and Sons, Chichester, U.K.
- Guilizzoni P., Massaferro J., Lami A., Luis Piovano E., Ribeiro Guevara S., Maris Formica S., Gerli S. 2009. Palaeolimnology of Lake Hess (Patagonia, Argentina): multi-proxy analyses of short sediment cores. *Hydrobiologia*, 631(1): 289–302. doi:10.1007/s10750-009-9818-5
- Harris D., Joshi A, Khan P.A., Gothkar P., Sodhi P. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Exp. Agric.* 35:15-29.
- Hodgson D. A., Vyverman W., Verleyen E., Sabbe K., Leavitt P.R., Taton A., Keely B.J. 2004. Environmental factors influencing the pigment composition of in situ benthic microbial communities in east Antarctic lakes. *Aquatic Microbial Ecology*, 37: 247–263.
- Hodgson, D. A., W. Vyverman, E. Verleyen, K. Sabbe, P. R. Leavitt, A. Taton, A. H. Squier, & B. J. Keely, 2004. Environmental factors influencing the pigment composition of in situ benthic microbial communities in east Antarctic lakes. *Aquatic Microbial Ecology* 37: 247–263.
- Hughen K.A, Overpeck J.T., Peterson L.C., Trumbore S. 1996. Rapid climate changes in the tropical Atlantic region during the last deglaciation. *Nature* 380:51–54

- Hurley J.P., Armstrong D.E. 1991. Pigment preservation in lake sediments: a comparison of sedimentary environments in Trout Lake, Wisconsin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48: 472–486.
- Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. 1997. *Phytoplankton Pigments in Oceanography*. Paris: UNESCO Publishing.
- Krinsky N.I. 1979. Carotenoid pigments: multiple mechanism for coping with the stress of photosensitized oxidations. In M. Shilo (Ed.), *Strategies of Microbial Life in Extreme Environments*. (pp. 167–177). Berlin (Germany): Dahlem Konferenzen.
- Leavitt P.R., Carpenter S.R. 1990. Regulation of pigment sedimentation by photo-oxidation and herbivore grazing. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(6): 1166–1176.
- Leavitt P.R., Hodgson D.A. 2001. Sedimentary pigments. In J. P. Smol, H. J. B. Birks, & W. M. Last (Eds.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. (pp. 295–325). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Mardones. 2014. Reconstrucción cuantitativa de temperaturas (Calibración “in time”) para el Centro Sur de Chile, basada en pigmentos sedimentarios de Laguna Chica de San Pedro (36°51`S, 73°06`O). Habilitación presentada para optar al título de Ingeniero Ambiental, Facultad de Ciencias Ambientales, Centro EULA-Chile, Universidad de Concepción, Chile
- Michelutti N., Blais J.M., Cumming B.F., Paterson A.M., Ruehland K., Wolfe A.P., Smol J.P. 2010. Do spectrally inferred determinations of chlorophyll-a reflect trends in lake trophic status? *Journal Paleolimnology* 43: 205-217.
- Mix A.C, Rugh W., Pisias N.G., Veirs S., Party L.S. 1992. Color reflectance spectroscopy: a tool for rapid characterization of deep-sea sediments. *Proc Ocean Drilling Program, Initial Rep* 138:67–77.
- Nedbalová, L., M. Mihál, J. Kvéderová, L. Procházková, T. Řezanka, & J. Elster, 2017. Identity, ecology and ecophysiology of planktic green algae dominating in ice-covered lakes on James Ross Island (northeastern Antarctic Peninsula). *Extremophiles* 21: 187–200.
- Overmann J., van Gemerden H. 2000. Microbial interactions involving sulfur bacteria: implications for the ecology and evolution of bacterial communities. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(5): 591–599. doi:10.1111/j.1574-6976.2000.tb00560.x
- Piovano E.L., Ariztegui D., Córdoba F., Cioccale M., Sylvestre F. 2009. Hydrological Variability in South America below the Tropic of Capricorn (Pampas and Patagonia, Argentina) During the Last 13.0 Ka. In F. Vimeux, F. Sylvestre, & M. Khodri (Eds.), *Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions* (Vol. 14, pp. 323–351). Dordrecht: Springer Netherlands. Retrieved from http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-90-481-2672-9_14.
- Porra R., Pfundel E., Engel N. 1997. Metabolism and function of photosynthetic pigments. En: *Phytoplankton pigments in oceanography*. Jeffrey S., Mantoura R., Wright S. Editores. UNESCO Publishing.
- Rein B., Sirocko F. 2002. In-situ reflectance spectroscopy–analysing techniques for high-resolution pigment logging in sediment cores. *International Journal of Earth Sciences*, 91(5), 950-954.
- Rein B., Lueckge A., Reinhardt L., Sirocko F., Wolf A., Dullo W. 2005. El Niño variability off Peru during the last 20,000 years. *Paleoceanography* 20: PA 4003
- Romero L., Camacho A., Vicente E., Miracle M. 2006. Sedimentation Patterns of Photosynthetic Bacteria Based on Pigment Markers in Meromictic Lake La Cruz

- (Spain): Paleolimnological Implications. *Journal of Paleolimnology*, 35(1): 167–177. doi:10.1007/s10933-005-8145-8.
- Rowan K.S. 1989. *Photosynthetic Pigments of Algae*. New York: Cambridge Univ. Press.
- Roy S., Llewellyn C.A., Egeland E.S., Johnsen G. 2011. *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography*. Cambridge University Press.
- Sanger J.E. 1988. Fossil pigments in paleoecology and paleolimnology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 62: 342–359.
- Schneider R.R., Cramp A., Damuth J.E., Hiscott R.N., Kowsmann R.O., Lopez M., Nanayama F., Normark W.R., Shipboard Scientific Party. 1995. Color reflectance measurements obtained from Leg 155 cores. *Proc Ocean Drilling Program, Initial Rep 155*:697–700
- Takaichi S. 2011. Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. *Marine Drugs*, 9(6): 1101–1118. doi:10.3390/md9061101
- Trachsel M., Kvisvik B.C., Nielsen P.R., Bakke J., Nesje A. 2013. Inferring organic content of sediments by scanning reflectance spectroscopy (380–730 nm): applying a novel methodology in a case study from proglacial lakes in Norway. *Journal of Paleolimnology*, 50(4), 583-592.
- Troin M., Vallet-Coulomb C., Piovano E., Sylvestre F. 2012. Rainfall–runoff modelling of recent hydroclimatic change in a subtropical lake catchment: Laguna Mar Chiquita, Argentina. *Journal of Hydrology*, 475: 379–391. doi:10.1016/j.jhydrol.2012.10.010
- Vallentyne J.R. 1957. The molecular nature of organic matter in lakes and oceans to sewage and terrestrial soils. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 14: 33–82.
- von Gunten L., Grosjean M., Rein B., Urrutia R., Appleby P. 2009. A quantitative high-resolution summer temperature reconstruction based on sedimentary pigments from Laguna Aculeo, central Chile, back to AD 850. *The Holocene* 19, 6: 873–881 DOI: 10.1177/0959683609336573
- Welschmeyer N.A., Lorenzen C.J. 1985. Role of herbivory in controlling phytoplankton abundance: annual pigment budget for a temperate marine fjord. *Marine Biology*, 90: 75–86.
- Wetzel R.G., Manny B.A. 1978. Postglacial rates of sedimentation, nutrient and fossil pigment deposition in a hard water marl Lake of Michigan. *Pol. Archiv Für Hydrobiologie*, 25: 453–469.
- Wolfe A.P., Vinebrooke R., Michelutti N., Rivard B., Das B. 2006. Experimental calibration of lake-sediment spectral reflectance to chlorophyll a concentrations: methodology and paleolimnological validation. *J Paleolimnol* 36:91–100.
- Yacobi Y.Z., Mantoura R.F.C., Llewellyn C.A. 1991. The distribution of chlorophyll, carotenoids and their breakdown products in Lake Kinneret (Israel) sediments. *Freshwater Biology*, 26: 1–10.
- Züllig H. 1982. Untersuchungen über die Stratigraphie von Carotinoiden im geschichteten Sediment von 10 Schweizer Seen zur Erkundung früherer Phytoplankton-Entfaltungen. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 44: 1–98.

Capítulo 6: Partículas de carbón vegetal para la reconstrucción de regímenes de incendios

Minerva López-Pérez, Posgrado de Ciencias Biológicas, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, minervalop@ciencias.unam.mx

Alexander Correa-Metrio, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, acorrea@geologia.unam.mx

Flavia Quintana, CENAC/APN-CONICET, San Carlos de Bariloche, Argentina, flavia_quintana@hotmail.com

Palabras clave: Régimen de incendios, partículas de carbón vegetal, ecología del fuego, reconstrucción de incendios.

1. Introducción

El fuego está presente en el planeta todos los días con un impacto evidente sobre el medio ambiente y las actividades humanas, así como en la economía y el bienestar social en general (Bowman et al. 2009). Mientras algunos sistemas naturales están adaptados y muestran relaciones de interdependencia con el fuego, en sitios donde los incendios no forman parte de la dinámica natural pueden llegar a ser un factor relevante para la pérdida de la biodiversidad (Cochrane 2002). Así, los estudios del fuego que utilizan datos actuales, como incendios experimentales o estudios ecológicos, son importantes para proponer políticas sobre el manejo del fuego (p. ej. Hardesty et al. 2005; Myers 2006). Sin embargo, la incorporación de estudios con una ventana de tiempo más amplia, permite abordar un tema tan complejo como el fuego y su manejo de forma integral.

Los incendios producen materia vegetal carbonizada en fragmentos pequeños, conocidos como partículas de carbón vegetal (*charcoal* en inglés). Estas partículas son transportadas desde el sitio del incendio hasta ambientes sedimentarios, como los lagos, donde se preservan en el sedimento junto con otros paleo indicadores, como polen, diatomeas, ostrácodos, cladóceros etc., también incluidos en este libro. Así, estas partículas presentes en las secuencias sedimentarias constituyen una herramienta muy útil para estudiar incendios ocurridos en el pasado, generando secuencias temporales en escalas de tiempo de hasta miles de años (Whitlock y Larsen 2001).

En este capítulo se revisarán aspectos generales de las partículas de carbón vegetal presentes en secuencias sedimentarias lacustres, los cuales permiten su uso como indicador confiable de incendios pasados, los métodos de muestreo, de procesamiento en el laboratorio y análisis. Se incluye información sobre estudios relacionados a la calibración de la señal de fuego que se obtiene de las partículas de carbón en relación a incendios observados, pues estos estudios son la base de una interpretación correcta de la información derivada de los sedimentos.

2. Escalas de estudio del fuego

La importancia relativa de los factores que explican la ocurrencia de fuego cambia cuando los estudios se enmarcan en escalas espaciales y temporales de diferente dimensión. La integración de la información obtenida de estudios realizados bajo distintas escalas mejora nuestra comprensión de fenómenos complejos como la ocurrencia de fuego en el planeta. Los llamados *triángulos de fuego* (Figura 1) son enfoques de estudio que están delimitados por distintas escalas espacio-temporales que facilitan la comprensión e interpretación del fuego como un objeto de estudio complejo y dinámico (Cochrane 2009; Scott et al. 2013).

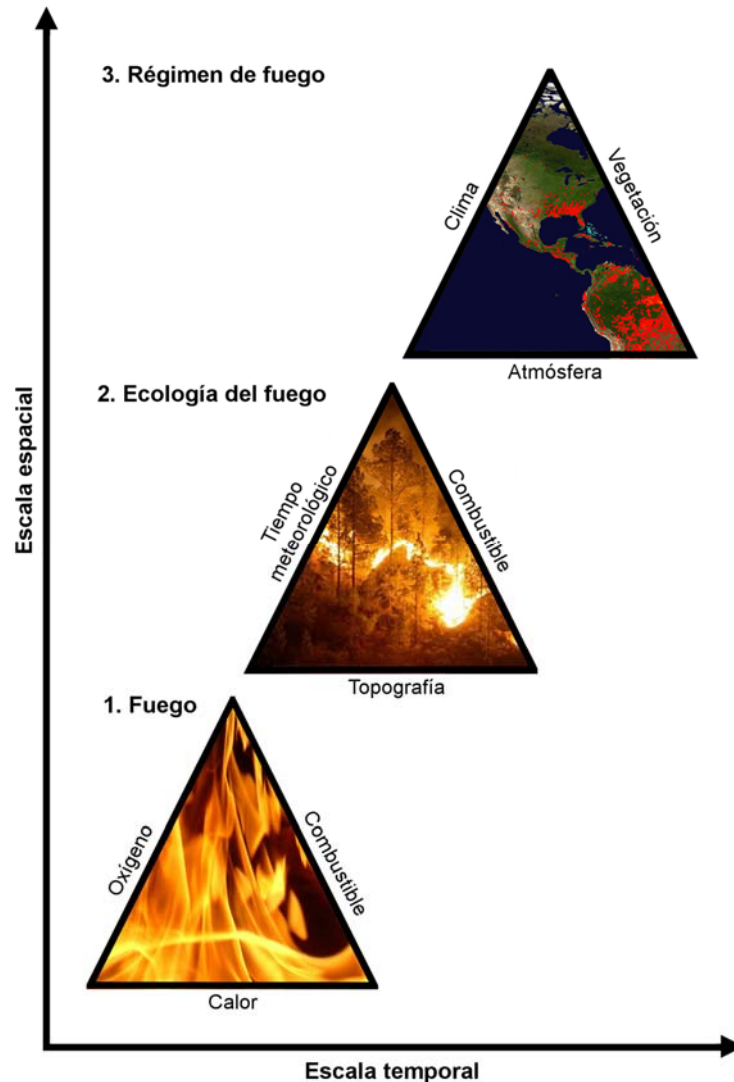


Figura 1. Los *triángulos de fuego* son enfoques de estudio del mismo acotados por su escala espacial y temporal. De menor a mayor escala es posible abordar las propiedades del fuego, su relación con el ambiente y sus dinámicas a lo largo del tiempo (Modificado de Cochrane 2009).

El fuego

El fuego es un fenómeno de combustión que requiere tres elementos para que se produzca: calor, combustible y oxígeno (primer triángulo de fuego, Figura 1). En la historia de la Tierra no siempre han estado presentes estos factores. Mientras el calor ha estado presente desde la formación de la Tierra, se requirió de una atmósfera oxidante y la presencia y abundancia suficiente de plantas terrestres para poder producir incendios (Pyne 2001). El registro fósil brinda evidencia, por medio de carbón fósil, de la ocurrencia de incendios desde hace 420 millones de años, en el Silúrico, así como de un incremento de éstos posterior a la proliferación de las plantas vasculares en el Devónico, relacionado con el aumento de los niveles de oxígeno atmosférico (Scott 2000). En cuanto al oxígeno, a escala geológica, éste ha sido un factor determinante en la incidencia de incendios, lo que ha permitido identificar una *ventana de fuego*, cuyos límites van de 13% a 35% de oxígeno en la atmósfera (Scott y Glasspool 2006).

La combustión de la materia vegetal, también llamada pirólisis, genera micropartículas de carbón (Figura 2). Al igual que los restos de carbón macroscópico, el proceso para su generación está mediado por la temperatura que alcanza el incendio, de la siguiente manera (Scott 2010): A temperaturas de 20 a 110 °C la celulosa absorbe calor y libera vapor de agua; cuando la temperatura está alrededor de 100 °C la madera se seca completamente; entre 100 y 270 °C los últimos restos de agua se desprenden y la madera se comienza a descomponer liberando monóxido de carbono, dióxido de carbono, ácido acético y metanol; de 270 a 290 °C comienza la descomposición exotérmica de la madera con desprendimiento de gases y vapores; de 290 a 400 °C el rompimiento de la estructura de la madera continúa y los alquitranes comienzan a predominar; finalmente, a 400 °C la carbonización de la madera está prácticamente completa.



Figura 2. Partículas de carbón vegetal vistas en estéreo microscopio. Las partículas son transportadas desde el sitio del incendio hasta diversos ambientes sedimentarios por el viento y por escorrentía superficial.

Ecología del fuego

Un disturbio en ecología se define como “un evento relativamente discreto en el tiempo que tiene la capacidad de afectar la estructura de una población, comunidad o ecosistema y de alterar la disponibilidad de recursos” (Pickett y White 1985). El viento, el agua, la ocurrencia de heladas, avalanchas, ríos de lava, el fuego etc., son agentes de disturbios ecológicos. Así el fuego es un componente de los sistemas ecológicos que puede impactar en gran medida los ecosistemas.

De forma natural los incendios pueden iniciarse por la caída de rayos, meteoritos y por vulcanismo (Patterson et al. 1987). Sin embargo, la influencia humana en el ambiente ha incrementado la incidencia de incendios a través de actividades como la deforestación, acciones relacionadas con la agricultura, la fragmentación, la acumulación de basura, la quema de residuos y los accidentes (Cochrane 2002).

En el segundo *triángulo del fuego* (Figura 1) son importantes tres aspectos: la topografía del terreno sobre el cual ocurre la quema, el tipo de combustible presente (vegetación) y las condiciones del tiempo meteorológico (Scott et al. 2013). Estas propiedades son abordadas por la ecología del fuego, que estudia las relaciones de los incendios con los organismos vivos y el ambiente (Cochrane 2009). Con este enfoque los estudios responden a cuestiones como la adaptación de plantas y animales a la presencia de fuego, la sensibilidad, impacto y resiliencia de los ecosistemas, la identificación de respuestas a los regímenes de incendios, etc.

Los efectos del fuego sobre la vegetación son más claros que en otros grupos de organismos, incluso se ha llegado a considerar al fuego como análogo a los herbívoros en términos de la forma en que afecta la vegetación (Bond y Keeley 2005). En relación a los animales, los efectos del fuego pueden ser directos o indirectos. En el caso de animales de desplazamiento lento, como algunos reptiles pequeños, los efectos del fuego son generalmente mortales y directos. Sin embargo, animales que logran desplazarse y evitar la incidencia directa del fuego, como aves o mamíferos, llegan a morir porque no pueden cubrir sus requerimientos vitales básicos, como suficiente alimento. En otros casos, la destrucción de la estructura del hábitat expone a algunos animales a mayores tasas de depredación, o enfrentan la pérdida y/o fragmentación de su hábitat (Cochrane 2002; Cochrane 2009).

En cuanto a los microorganismos, su respuesta a los incendios está todavía menos estudiada. Recientemente, se ha encontrado que las bacterias responden con cambios en su diversidad frente a los incendios, principalmente debido a que el fuego altera las propiedades físicas y químicas de los suelos (Xiang et al. 2014).

Regímenes de incendios

La ecología del fuego utiliza el concepto de *régimen de incendios* para caracterizar este disturbio según los patrones de ocurrencia e intensidad en un determinado sitio, así como la respuesta de la vegetación (Cochrane 2009). Los elementos que se utilizan para caracterizar un régimen de fuego se describen a continuación, según Davis (2013).

a) *Extensión*. La extensión del fuego se refiere al área quemada, y en un contexto más amplio, se refiere al área promedio que se quema de un ecosistema en cierto periodo de tiempo. Los efectos ecológicos varían según esta característica, debido a que el área quemada generalmente no es homogénea y se producen parches o claros después de los incendios que influyen en la heterogeneidad ambiental.

b) *Estacionalidad*. Es el periodo del año en el que ocurren principalmente los incendios. Los impactos, equivalentes a la intensidad del fuego, dependen en gran medida del estado fenológico de la vegetación: un incendio que ocurre en una comunidad cuando hay mayor producción de semillas, dada la mayor disponibilidad de combustibles altamente inflamables como aceites, puede ser más grave para la comunidad que cuando prevalecen estados senescentes.

c) *Frecuencia*. Es una medida de qué tan comunes son los incendios. Este parámetro es importante para identificar si un sitio presenta patrones cíclicos en la incidencia del fuego, así como para identificar el tiempo en que la vegetación reacciona o se recupera a los incendios. Influye también en las características de los ciclos de vida de las especies y en la estructura de las comunidades expuestas al fuego.

d) *Intensidad y severidad*. La intensidad es la cuantificación de energía liberada durante el incendio considerando la tasa de propagación del fuego, el calor de combustión y el combustible quemado por área. La severidad por su parte es una función de la intensidad, pero depende del grado de afectación del fuego al ambiente, y representa el impacto ecológico medido como la mortalidad de los organismos a causa del incendio.

Las respuestas de la vegetación a los regímenes de incendios son otra forma de caracterizar el papel del fuego en el ambiente, por lo que se han definido cuatro tipos de respuestas (Hardesty et al. 2005): 1) vegetación dependiente al fuego, 2) sensible al fuego, 3) con influencia de fuego y 4) independiente del fuego. Esta clasificación es útil cuando se aborda el fuego con un enfoque conservacionista (Myers 2006).

3. Paleo-Fuego

Al incrementar la escala temporal de los estudios de regímenes de fuego, utilizando partículas de carbón vegetal, es posible ahondar en aspectos como la frecuencia e

intensidad de los incendios ocurridos en relación a cambios en el sistema climático e impacto humano. Las partículas de carbón vegetal se pueden preservar en ambientes sedimentarios como lagos, turberas, abanicos aluviales y coluviales, ambientes de depósito marinos, entre otros (Scott 2010). Una de las ventajas de estudiar los paleofuegos a partir de sedimentos lacustres es que además del material carbonizado vegetal, también se preservan en los sedimentos otros indicadores biológicos, también abordados en este libro, como polen, diatomeas, ostrácodos, copépodos, entre otros. Los cuales permiten complementar la información obtenida de las partículas de carbón respecto a los incendios con reconstrucciones de diferentes aspectos ambientales, como cambios en la vegetación y el clima. Así, con un análisis *multi-proxy*, es decir, reconstruyendo la historia de un sitio utilizando varios indicadores, la historia inferida es más completa y confiable (Birks y Birks 2006).

Tafonomía de las partículas de carbón vegetal

Las partículas de carbón vegetal tienen dos características importantes que permiten su uso como indicador de incendios. La primera es que las partículas son relativamente inertes y de fácil preservación en los registros fósiles (Scott 2010). La segunda característica es que eventualmente se puede preservar la anatomía de la planta en piezas que suelen medir algunas micras, permitiendo la identificación taxonómica de los restos. Sin embargo, la interpretación de este indicador precisa estudios tafonómicos que permitan un acercamiento a los procesos que influyen en el transporte, depositación y preservación en los sedimentos (Patterson et al. 1987; Whitlock y Larsen 2001).

En relación a la depositación de las partículas de carbón vegetal hay dos momentos importantes (Figura 3). El primer momento se produce cuando la depositación de partículas ocurre durante o en tiempos muy próximos a un incendio, denominándose a estas partículas *carbón primario*. El segundo momento corresponde a la depositación de partículas posterior a la ocurrencia del incendio, debido a que las partículas que quedan almacenadas en el suelo se siguen depositando, y en ese caso se habla de partículas de *carbón secundario* (Whitlock y Larsen 2001). Ambos momentos se pueden distinguir estadísticamente debido a que la distribución de tamaños de las partículas presentes en una muestra es distinta en cada momento, además de ser informativa en términos generales de la distancia del incendio al lago. De hecho, las partículas de carbón de origen primario suelen reflejar incendios más locales que las de origen secundario (Whitlock y Anderson 2003).

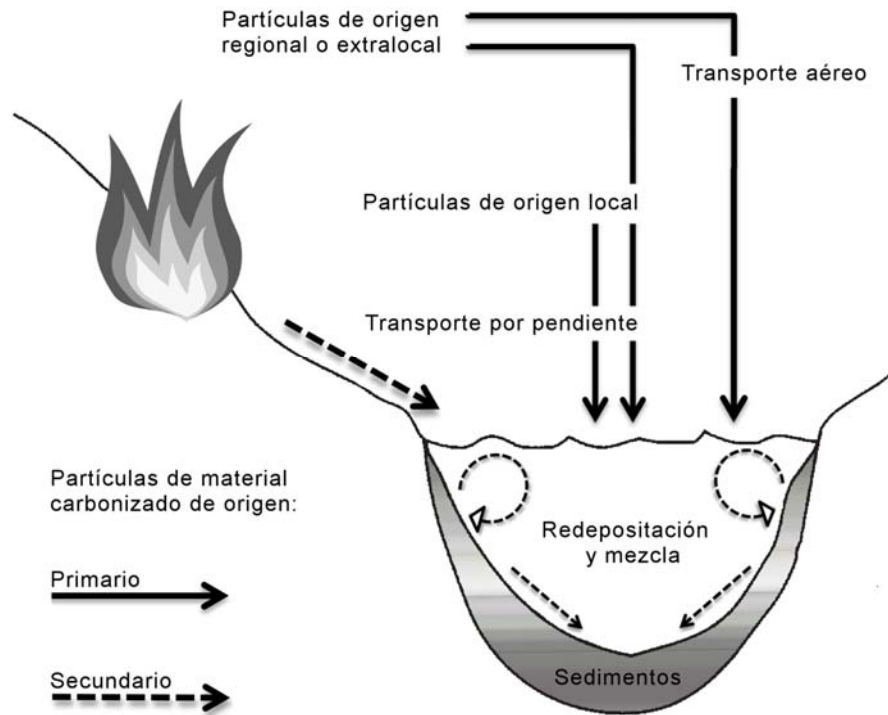


Figura 3. Esquema de procesos tafonómicos de las partículas de carbón vegetal. Los incendios no necesariamente ocurren cerca de los lagos, por lo que las partículas de carbón primario y secundario están sujetas a procesos de transporte por parte de factores como la escorrentía y el viento. Una vez entran al lago también se dan procesos de mezcla de sedimentos y redepositación que influyen en el registro (Modificado de Whitlock y Larsen 2001).

El tamaño de partículas que se preservan en los sedimentos es un dato que se utiliza en los análisis estadísticos pues brinda información sobre la distancia del incendio al lago. De forma general, se considera que las partículas mayores a 125 μm de longitud en su lado más largo indican incendios más próximos al lago, mientras que las menores a este tamaño reflejan incendios regionales o lejanos, pues generalmente son transportadas grandes distancias por el viento (Whitlock y Larsen 2001). Sin embargo, las generalizaciones tafonómicas en cuanto a las partículas de carbón vegetal son un área de investigación abierta. En ambientes tropicales, por ejemplo, se ha observado que el umbral de tamaño de partícula que refleja incendios con mayor certeza depende del tipo de vegetación alrededor de los lagos (Duffin et al. 2008), de manera que es una característica variable en el espacio y el tiempo.

El relieve y las condiciones ambientales posteriores a un incendio modulan los procesos de dispersión de las partículas de carbón vegetal. Se considera que la mayor parte de las partículas se depositan en un periodo de tiempo cercano al incendio (carbón primario), pero hay cantidades menores que se siguen depositando después del fuego (carbón secundario) (Patterson et al. 1987). Debido a esto, en los registros

sedimentarios es posible observar presencia de partículas de carbón que se depositan de manera constante, o como una señal de fondo, de tal forma que *los máximos* en la cantidad de partículas de carbón vegetal por arriba de la señal de fondo se interpretan como evidencia de incendios pasados (Higuera et al. 2010).

Cuando las partículas de carbón ingresan a un lago se depositan en el fondo y forman parte de los sedimentos, sin embargo, dentro del cuerpo de agua ocurren procesos de mezcla que alteran la depositación, y por lo tanto, la interpretación de la señal que brindan las partículas (Whitlock y Larsen 2001). Otras características importantes para la depositación son la batimetría del lago, su tamaño y su profundidad, pues éstas determinan la existencia y distribución de zonas de acumulación de materiales y por ende de las partículas de carbón (Gardner y Whitlock 2001).

4. Metodología

Registro actual

Los estudios que utilizan partículas de carbón vegetal lacustre obtenido de la interfaz agua-sedimento de los lagos, brindan información sobre incendios ocurridos recientemente o hasta algunas décadas en el pasado, según la tasa de sedimentación que tenga el cuerpo de agua en cuestión (Whitlock y Larsen 2001). La información derivada de estos estudios es útil para hacer comparaciones entre la cantidad y forma en que se integran las partículas de carbón a los sedimentos en relación a los incendios identificados alrededor del mismo. Si los sedimentos del lago son laminados, estos estudios permiten hacer comparaciones con mejor resolución temporal, incluso puede ser intraanual, que cuando los lagos tienen bajas tasas de sedimentación (Sadori y Giardini 2007).

Una herramienta muy útil en los trabajos actuales es la percepción remota, pues permite hacer comparaciones entre la información reconstruida con partículas de carbón e incendios identificados por satélites local y regionalmente. Existe información pública, confiable y gratuita acerca de incendios detectados como *puntos de calor*. Un ejemplo es el sistema FIRMS (Fire Information for Resource Management Systems) de la NASA (National Aeronautics and Space Administration), que brinda información de puntos de calor captados por los satélites MODIS Terra y Aqua. La resolución espacial de la información disponible es de 1 km por pixel y la resolución temporal es de un día (Davies et al. 2004). Debido a que el calor de las ciudades, industrias o eventos naturales como las erupciones volcánicas son una fuente de error en la detección de *puntos de calor*, toda la información percibida por los satélites es calibrada utilizando algoritmos contextuales que aprovechan la fuente de emisión de la radiación infrarroja de los incendios (Gigliolo et al. 2003). De tal modo que la información disponible en la plataforma del sistema FIRMS cuenta con el dato del grado de confianza asociado a cada punto de calor detectado. Esto es importante porque permite discriminar entre la

información los datos con mayor certeza de ser incendios, estableciendo correlaciones confiables con otros factores, como las partículas de carbón y variables ambientales.

En cuanto a los métodos de las partículas de carbón vegetal de estudios actuales, éstos son muy similares a los de estudios de paleo reconstrucción, sólo difiere en que la muestra corresponde generalmente a sedimento actual, con la posibilidad de responder preguntas de investigación en un marco temporal de máximo décadas. Por ello se aborda en la siguiente sección la metodología a detalle.

Registro fósil

La metodología de las partículas de carbón vegetal lacustre consiste de tres fases principales: 1) muestreo de sedimento y procesamiento en laboratorio, 2) revisión de muestras en microscopio estereoscópico para fotografiar las partículas de carbón vegetal, y 3) análisis de las fotos y cuantificación del área de las partículas con uso de software computacional. A partir de estos pasos es posible generar los datos crudos de cantidad de carbón a lo largo de los núcleos de sedimento para su posterior análisis estadístico según el interés particular. Esta forma de trabajo mezcla dos métodos de trabajo, el primero la selección de partículas de carbón vegetal mayores a cierto umbral de tamaño, generalmente mayores a 100 micras de lado (Whitlock y Larsen 2001), y segundo, la cuantificación del área de las mismas utilizando fotografías y análisis de imágenes (Lynch et al. 2004).

Para extraer el sedimento de los lagos se puede utilizar una draga Ekman para el caso de muestras con información actual, pues recupera el sedimento más superficial. Para extraer sedimento más profundo se puede utilizar algún equipo de perforación con mayor alcance, por ejemplo una sonda de pistón Livingstone (Wright 1967), o un muestreador de gravedad tipo Uwitec. Cuando el sedimento de interés se ha recuperado se guarda en refrigeración y en condiciones que eviten su descomposición o contaminación, para posteriormente realizar los muestreos y trabajo de laboratorio. Los detalles de la perforación y obtención de núcleos se abordan en el capítulo referente a métodos de muestreo de este libro.

En el laboratorio, las muestras de sedimento se colocan en frascos pequeños en los que sea posible adicionar, aparte del sedimento, algunos mililitros de solución de pirofosfato de sodio al 10%. Generalmente se utiliza un centímetro cúbico de sedimento por muestra, así que en frascos de plástico de 5 ml se puede agregar una cantidad adecuada de dicha solución (Figura 4). Los frascos con la muestra más la solución deben agitarse y reposar en refrigeración mínimo 48 horas. Este método está basado y modificado de Whitlock y Larsen (2001). A pesar de que el carbón vegetal es relativamente inerte, es recomendable mantenerlas a bajas temperaturas debido a que la materia orgánica de los sedimentos podría descomponerse o contaminarse. El pirofosfato de sodio al 10% permite que las arcillas en la muestra defloquen, es decir,

se separen, libreando los fragmentos de carbón vegetal que puedan estar atrapadas por ellas. El siguiente paso es tamizar las muestras que ya reposaron a través de un tamiz de malla de 53 micras, el tamaño de luz de malla del tamiz varía según el objetivo del estudio. Para ello se traspasa la muestra en otros frascos que se puedan calentar, de preferencia de mayor tamaño a los anteriores, de tal forma que se pueda adicionar algunos mililitros más de solución de pirofosfato de sodio al 10%. Las muestras no deben llegar a ebullición para no fragmentar las partículas de carbón vegetal, tampoco se deben agitar con fuerza y al mezclarlas se debe tener cuidado de no macerar el material. Mientras la muestra está caliente, se tamiza para aprovechar la separación de arcillas que promueve la solución de pirofosfato caliente. Las arcillas se desechan y el sedimento remanente en el tamiz se lava con agua corriente para eliminar el pirofosfato, por último el material se recupera con apoyo de centrifugaciones continuas que eliminen el exceso de agua que pueda quedar de los lavados (Figura 4). Este proceso se realiza a 1,800 revoluciones por minuto durante un minuto cada una, procurando que no se compacte demasiado el sedimento para evitar que se fragmenten las partículas de carbón. Cuando el material está libre de arcillas se observa en un microscopio estereoscópico con cámara fotográfica acoplada. Las cajas Petri con cuadrícula facilitan la observación de la muestra (Figura 4). Las fotografías deben procurar tener luz suficiente para que el contraste de las partículas de carbón sea claramente distinguible por el software de análisis de imágenes **ImageJ**, de libre acceso, pues éste cuantifica el área de las partículas basándose en el contraste de los píxeles de la foto. Con una aguja de disección o un pincel muy delgado se pueden manipular las partículas de carbón en la caja Petri para generar fotos de fácil análisis. Debido a que el software genera el valor de área de cada partícula contenida en las fotos, hay que sumar el valor de todas las partículas contenidas en cada muestra para obtener al final los datos de número de partículas por muestra, más la cantidad de área de las mismas en $\text{cm}^2\text{cm}^{-3}$ de muestra.

Otra técnica ampliamente utilizada es cuantificar las partículas de carbón visibles en laminillas de polen en el microscopio, de forma paralela a la identificación de los granos, sin ningún procesamiento en laboratorio distinto al que se requiere para extraer el polen de las muestras (Whitlock y Larsen 2001). Esta técnica tiene como ventaja el ahorro de tiempo de procesamiento de muestras en el laboratorio y evita disponer de una cantidad de sedimento exclusiva para carbón vegetal como se describe en la técnica anterior, viable cuando el sedimento es escaso. Sin embargo, la información que se reconstruye es cualitativa ya que se basa en la proporción de partículas de carbón contadas en cada muestra, mientras que con la técnica de fotografiar la muestra se puede recabar más información, por ejemplo la morfología de las partículas que se asocia a cambios en la vegetación y cambios en el régimen de incendios a lo largo del tiempo (Courtney y Pisaric 2014).

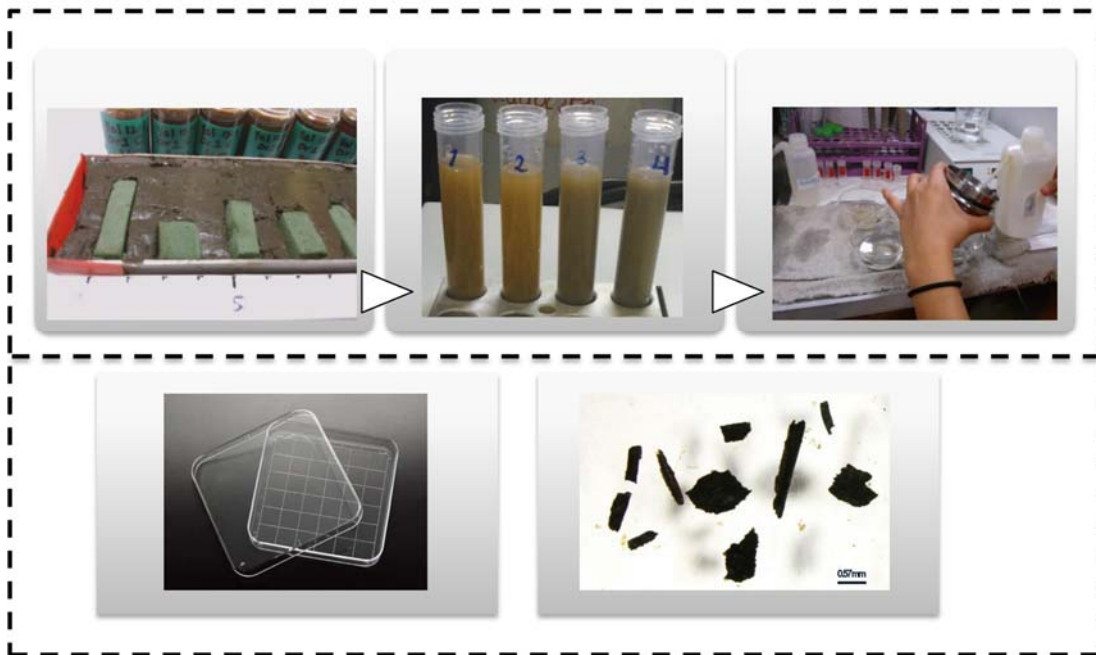


Figura 4. Métodos de trabajo en el uso de partículas de carbón vegetal. Arriba: Muestreo de núcleos de sedimento, calentamiento de las muestras y tamizado. Abajo: Ejemplo de cajas Petri que facilitan observar y fotografiar el carbón vegetal y ejemplo de foto para analizar con **ImageJ**.

El dato de carbón en relación a la tasa de sedimentación del núcleo al que corresponde la muestra permite calcular la tasa de acumulación de partículas de carbón vegetal, denominada CHAR, la cual puede calcularse a partir del número de partículas o área (Whitlock y Larsen 2001). Los análisis estadísticos que se aplican a los valores de CHAR pretenden distinguir los valores que corresponden a incendios significativos de aquellos que corresponden a la señal de fondo, considerando la variabilidad de los datos a lo largo del núcleo. Para ello es necesario identificar los parámetros estadísticos de las distribuciones que componen los datos de CHAR y que corresponden a la señal de fondo más los incendios. (Higuera et al. 2010). Para identificar la parte que corresponde a la señal de fondo en la distribución del CHAR se aplica una regresión polinómica ponderada LOESS (Cleveland y Devlin 1988) (Figura 5a). Cuando al valor CHAR se le resta el valor del umbral se obtienen valores positivos, que corresponden a posibles incendios, y valores negativos, característicos de los datos de la señal de fondo, a partir de estos datos se genera un modelo de mezcla Gaussiano que permite identificar los parámetros estadísticos que caracterizan las distribuciones de la señal de fondo y la de posibles incendios (Gavin et al. 2006) (Figura 5b). Dado que no todos máximos de CHAR son incendios significativos, sólo aquellos donde el valor de CHAR sea mayor al umbral que separa la distribución de fondo de la de incendios se consideran significativos estadísticamente (Figura 5c). Estos análisis se realizan en R (R Core Team 2013), específicamente con el paquete *mixtools* (Benaglia et al. 2009).

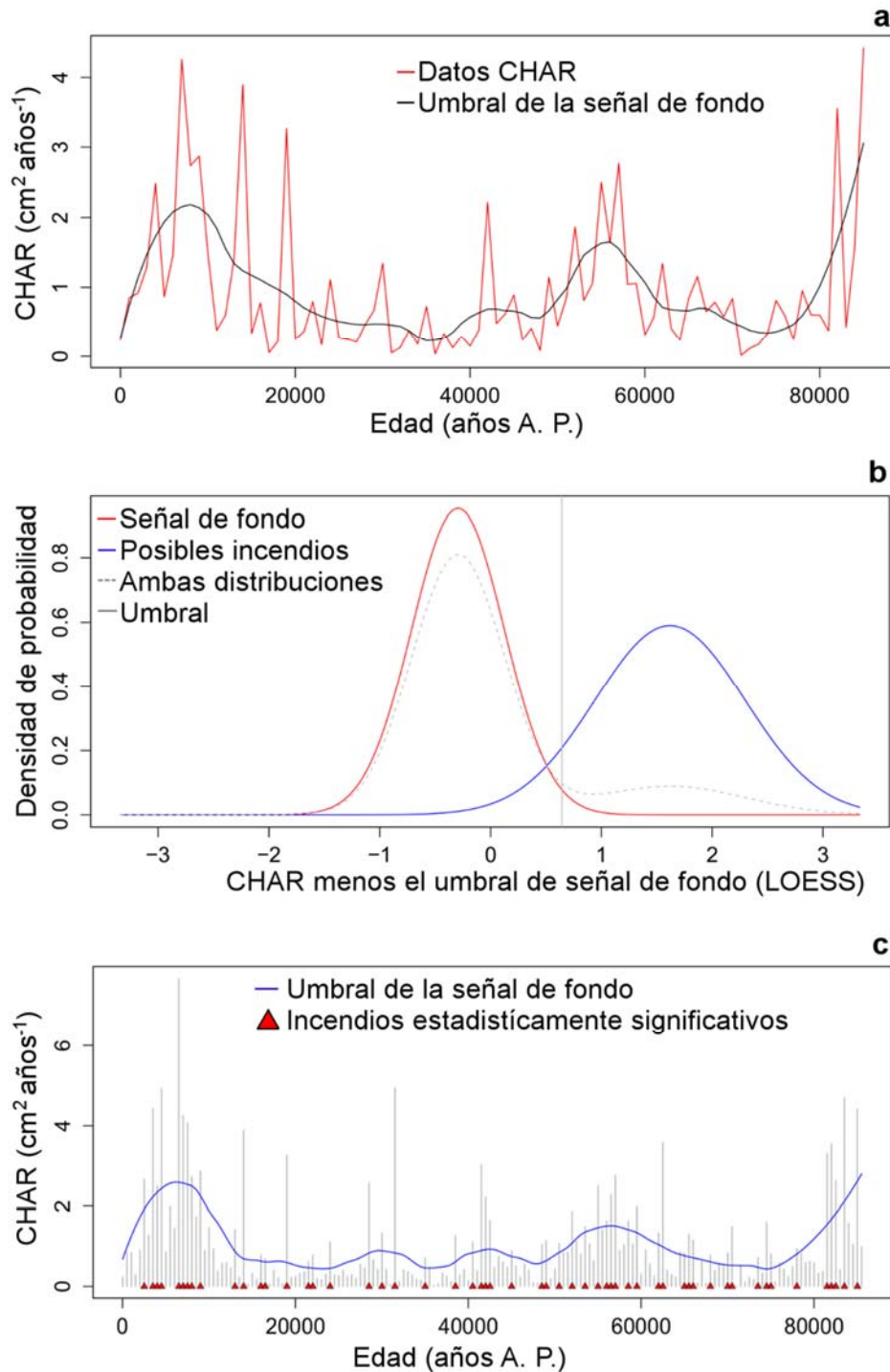


Figura 5. Identificación de incendios significativos estadísticamente a partir de datos del Lago Petén Itzá. **a:** Gráfica de los valores de CHAR a lo largo del tiempo, se muestra graficado en negro el umbral que delimita la señal de fondo de los máximos de CHAR como posibles incendios. **b:** Distribución de la señal de fondo en rojo, e incendios en azul. **c:** Gráfica de valores de CHAR con incendios significativos mostrando el umbral de la señal de fondo.

5. Aplicación de las partículas de carbón vegetal en paleo reconstrucción

A nivel mundial el uso de partículas de carbón es amplio en estudios de paleo reconstrucción. Un esfuerzo importante por condensar la información disponible al respecto es la *Base de datos mundial de material carbonizado* (GDC: Global Charcoal Database) (Power et al. 2010), en la que los datos de partículas de carbón vegetal de cientos de estudios está disponible en la red para incluirla en trabajos nuevos. Esta herramienta ha permitido observar el comportamiento de los regímenes de incendios y patrones en la biomasa quemada del planeta desde el Último Máximo Glacial (Power et al. 2008). A continuación se incluyen ejemplos del uso de las partículas de carbón vegetal en estudios de paleo reconstrucción en la región Neotropical.

México y Centroamérica

Hay pocos trabajos con énfasis en paleo reconstrucción de regímenes de fuego en México, se trata de un tema en desarrollo en el que falta mucho por estudiar. Las partículas de carbón vegetal se han utilizado como un indicador cualitativo de incendios que brinda información complementaria a los objetivos principales de los estudios. Es el caso de Lozano-García et al. (2005) quienes reconstruyeron 23,000 años de historia de la vegetación en la cuenca alta del río Lerma, en el centro de México, y se encontró que durante el Holoceno la cantidad de partículas de carbón fue muy elevada, lo cual se relacionó con la presencia humana en la región, además de evidencia de agricultura en la región durante los últimos 1,200 años A.P.

Un ejemplo donde el fuego sí representa el objetivo principal de estudio es el trabajo de Torres-Rodríguez et al. (2015) donde se reconstruyen los regímenes de incendios a partir de un núcleo sedimentario del lago de Chalco (19°30'N, 99°00'W, 2240 m snm), ubicado en la Cuenca de México, entre ~85 y 10.8 mil años atrás cal. AP. Este trabajo estudia las asociaciones entre el fuego, el clima y la actividad volcánica que caracteriza la Faja Volcánica Transmexicana. Además de las partículas de carbón vegetal se midieron indicadores geoquímicos, como la susceptibilidad magnética (SM) y el carbón inorgánico total (CIT). En este registro, los periodos de sequía se caracterizaron por altas concentraciones medias de CIT entre ~85 a 77 mil años antes del presente y durante la deglaciación entre ~14 y 10.8 mil años. A partir de 64 mil años se registraron cambios en la frecuencia de sequías, específicamente entre 47 y 21 mil años cuando el registro tiene las concentraciones más altas de CIT. En este sentido, los resultados son comparables a los obtenidos en un núcleo del lago Petén Itzá, en Guatemala (Hodell et al. 2008) que documenta cambios en el régimen hidrológico por una dinámica más intensa en la entrada de aguas frías al Golfo de México provenientes de la capa de hielo Laurentino.

En cuanto los episodios de incendios reconstruidos, se identificaron 123 máximos de carbón distribuidos en tres intervalos de frecuencia (Figura 6). La mayoría

se relacionaron con sequías, principalmente durante la última parte del Estadio Isotópico Marino 3 (40-27 mil años cal. A.P.), asociado a altas concentraciones de CIT y un periodo con insolación elevada en primavera. La actividad volcánica de la región sugirió una retroalimentación entre incendios y vulcanismo, pues 26 episodios de fuego tuvieron capas de tefras. Además, hubo evidencia estadística que soporta la idea de una relación positiva entre el fuego, el CIT y la SM, sin embargo estos elementos explican de forma independiente una parte de la variabilidad observada. En este caso se observó que el régimen de fuego del lago de Chalco presenta variabilidad controlada principalmente por factores ambientales, con altas temperaturas reguladas por la insolación de verano que controla la precipitación de carbonatos y mantiene condiciones secas propicias para el fuego.

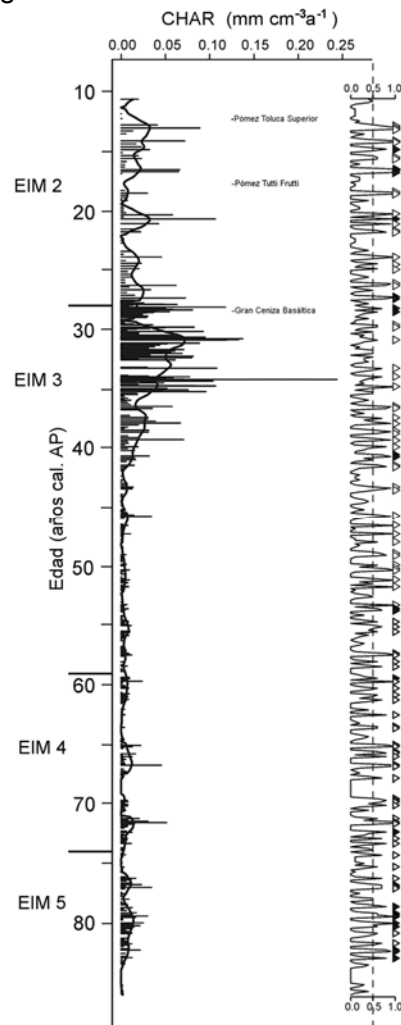


Figura 6. Registro de material vegetal carbonizado de sedimentos del Lago de Chalco. Las barras horizontales son los valores de CHAR y la línea negra el umbral de la señal de fondo. Del lado derecho los triángulos negros indican eventos de fuego asociados con vulcanismo, los blancos con sequías y la línea graficada muestra el valor de probabilidad en cada punto (Modificado de Torres-Rodríguez et al. 2015).

En Centroamérica, en Caffrey y Horn (2014) se analizaron partículas de carbón vegetal de tres lagos en las islas caribeñas de La Española y Puerto Rico: Laguna Saladilla en la República Dominicana, Lago Miragoane en Haití y Laguna Tortuguero en Puerto Rico. En este caso las partículas se contaron directamente en laminillas de polen, analizando los últimos 7,000 años del Holoceno. Las dinámicas del fuego se analizaron considerando información antropológica y palinológica de actividad humana, explorando el papel de la creciente insolación de invierno para esta temporalidad.

Se observó un incremento en los eventos de fuego en la zona noreste del Caribe, principalmente alrededor de Laguna Tortuguero, Puerto Rico a partir de 5,000 años A.P. al presente, lo cual se atribuye a la llegada de humanos a Puerto Rico, sin embargo, para el Lago Miragoane el incremento observado se relaciona más con la caída de rayos y tormentas. Según el registro de Laguna Saladilla en República Dominicana, el aumento en los eventos de fuego se explica un aumento en la insolación de invierno. Esto habría dado lugar a inviernos secos que promovieran la incidencia de más incendios en la región además de la presencia humana.

El trabajo de Correa-Metrio y Bush (2012) contribuye a ampliar la historia de los cambios de la vegetación e incendios de los últimos 86,000 años en Centroamérica a partir de un registro sedimentario largo obtenido del Lago Petén Itzá en Guatemala (16°55'N, 89°50'O, 110 msnm). De forma general los cambios en la vegetación y la temperatura del aire observados en el registro responden a la variabilidad en escala milenaria del Océano Atlántico Norte, mientras que los interestadiales cálidos de Groenlandia se asociaron con condiciones cálidas y húmedas en las regiones de elevación media de Centroamérica, contrario a los estadiales fríos que provocaron sequías extremas y condiciones frías en la región. La variabilidad observada en los incendios de este registro, inferida a través de las partículas de carbón vegetal, reveló que el fuego se ha caracterizado por ser un fenómeno inconsistente, presentándose en forma de *pulsos* a lo largo de los 86,000 años influenciado por la sinergia de múltiples factores. Se observó un incremento de incendios cuando la insolación estacional aumentó y en periodos de sequía, pero si los eventos secos eran extremos se suprimían los incendios debido a una disminución en la disponibilidad de combustible. Se identificaron tres periodos de intensa actividad de incendios, ~85.5-81, 60-50 y 10.5-5.5 mil años A.P., que coincidieron con una mayor diferencia entre la insolación de verano y la de invierno, generando una fuerte estacionalidad. La respuesta de los incendios a factores ambientales presentó cambios importantes alrededor de 5,000 años A.P. al presente por la influencia humana identificada en el sitio de estudio.

Sudamérica

En esta región también hay un creciente interés por reconstruir regímenes de incendios en escala de milenios. Una síntesis de la historia de los incendios de los últimos 12,000 años cal. A.P. basada en más de treinta registros del sur Sudamérica (Whitlock et al. 2007), permite identificar tres aspectos importantes sobre la historia del fuego (Figura 7), el primero es que al sur de los 40°S, durante el Holoceno Temprano (9,500 años cal. A.P.) el contenido de carbón en las secuencias es generalmente mayor que el actual, indicando una alta ocurrencia de incendios. Esta característica es atribuida a una mayor insolación anual. Segundo, que Durante el Holoceno Medio (6,000 años cal. A.P.), al norte de los 42° S y al sur de los 50°S el contenido de carbón es mayor que el actual pero menor que el correspondiente al Holoceno Temprano, mientras que en sectores intermedios es igual o menor que el actual. Este patrón es interpretado como el inicio de la regionalización en la actividad de incendios, relacionada con la transición de condiciones de aridez persistentes del Holoceno Temprano a una mayor variabilidad climática característica del Holoceno Tardío (últimos 3,000 años cal. A.P.). Tercero, el Holoceno Tardío presenta un patrón espacialmente heterogéneo atribuido al incremento de la variabilidad climática en escalas interanuales y decadales aunadas al incremento de la actividad humana en el ecotono bosque-estepa.

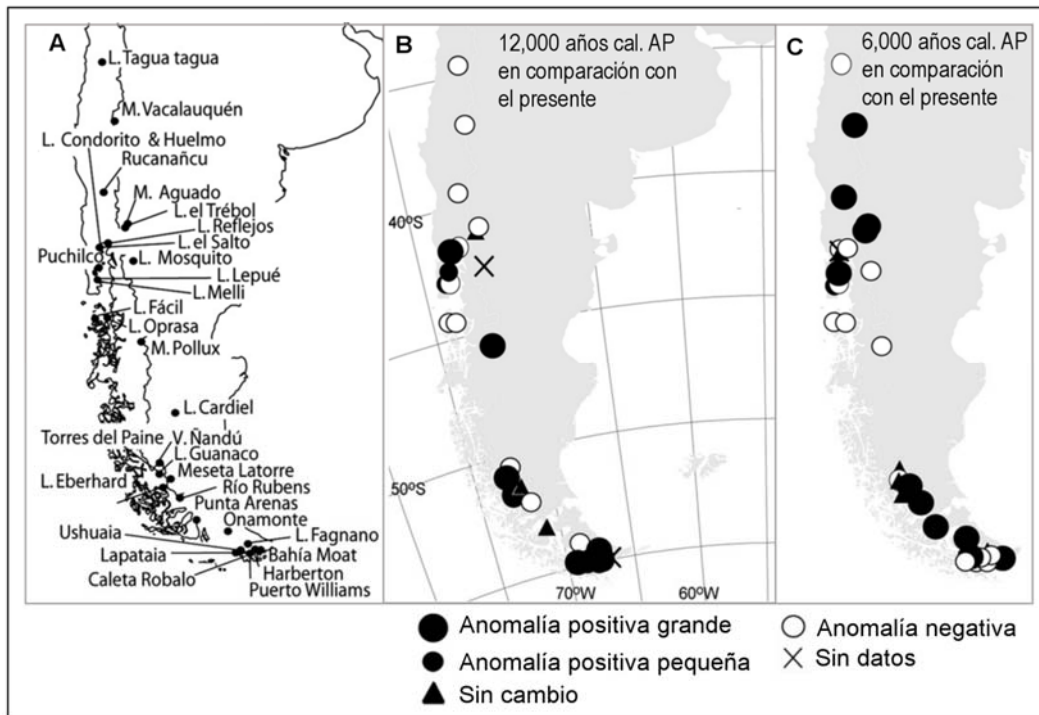


Figura 7. Comparación de la actividad del fuego en registros de Sur América en base a cambios en la abundancia de partículas de carbón vegetal. El mapa **A** muestra los sitios utilizados para las comparaciones. El mapa **B** muestra la comparación de 12,000 años cal. AP con el presente, y el mapa **C** de 6,000 años cal. AP y el presente (Modificado de Whitlock et al. 2007).

Un ejemplo de esto es el trabajo de Iglesias et al. (2014), en el que se reconstruyó la historia de la vegetación y los incendios de los últimos 23,000 años A.P. a partir de once registros localizados en los flancos orientales de los Andes Patagónicos (41-43°S). El objetivo principal fue reconocer los cambios de la vegetación en el ecotono entre estepa y bosque, para ello se analizó la variabilidad de polen y de las partículas de carbón vegetal en alta resolución. El estudio permitió reconocer que la variabilidad climática es de gran importancia, junto con la ubicación de *refugios* glaciales con condiciones biofísicas específicas, en la conformación de la vegetación del ecotono. Durante el Último Máximo Glacial casi no se observaron incendios, y el polen indica que hubo persistencia de grupos de árboles en la región. Las condiciones hacia el Holoceno Temprano (15-10 mil años A.P.) fueron más cálidas y húmedas, permitiendo la colonización de árboles y arbustos, también se observó que la frontera del ecotono tuvo avances y retrocesos hacia el este con cambios en escala milenaria, pero con cambios que no fueron significativos en la vegetación y los incendios. Durante el Holoceno Medio (10-5 mil años A.P.) se observó un gradiente bien definido de oeste a este en la vegetación en el norte de Patagonia, donde al incrementarse la productividad también se incrementaron los incendios. Los últimos 5 mil años A.P. se caracterizaron por un aumento en la humedad atribuida al desplazamiento hacia el norte y fortalecimiento de los vientos del oeste, así como mayor variabilidad interanual en el clima.

En otro estudio De Porras et al. (2014) reconstruyó la historia ambiental de sitios en Chile ubicados alrededor de los 44°S. Los patrones establecidos a partir del análisis de las partículas de carbón vegetal concuerdan con los descritos para el Holoceno Temprano en la síntesis de Whitlock et al. (2007). Sin embargo, cuestiona que las causas sean solo climáticas ya que la presencia humana al este del área de estudio fue importante para este momento. Por otro lado, caracteriza al Holoceno Tardío por la asincronía de patrones al oeste y este del área de estudio. Las secuencias del este revelan una actividad de incendios alta y a su vez asincrónica probablemente causada por la relación compleja fuego-vegetación-clima, aunque también podría atribuirse a una actividad humana alta, con un registro importante en este sector de la Patagonia.

Para el sector situado al sur de los 50°S, se sugiere que el origen de los incendios es principalmente antropogénico debido a que hay una baja frecuencia de tormentas eléctricas registradas en la actualidad, por lo tanto la presencia de carbón vegetal en los registros de los últimos 12,000 años cal A.P. sería en general consecuencia de actividades, como la caza, que realizaban los primeros grupos humanos que habitaron este sector (Heusser 2003). Sin embargo otros autores sugieren que las fluctuaciones climáticas ocurridas durante el Holoceno tuvieron incidencia en la frecuencia de tormentas convectivas (Huber y Markgraf 2003).

Gran parte de los registros utilizados en la síntesis expuesta como en la discusión sobre el origen de los incendios provienen de sitios localizados en o cerca de bosques templados, pero hay un registro de carbón vegetal representativo de la

dinámica de los incendios en un área donde la vegetación dominante es la estepa gramínea (Quintana y Bianchi 2010). Este registro proviene de la Laguna Potrok Aike (51°58'S, 70°23'O). El registro abarca los últimos 15,500 años cal. A.P. Si bien la resolución del análisis es baja, los resultados señalan que el contenido de partículas macroscópicas de carbón vegetal (>125µm) antes de los 12,000 años cal. A.P. (Tardiglacial–Holoceno Temprano) es bajo, aumentando hacia los 8,000 años cal. A.P. Alrededor de los 12,000 A.P. (Holoceno Temprano) el número de partículas de carbón de gramíneas es mayor que en el presente, mientras que a los 8,500 A.P. el número de partículas de carbón vegetal en general es mayor que en la actualidad. Entre 8 y 3 mil años A.P. el nivel de partículas es bajo. Por último, a partir de los 3,000 años cal. A.P. y hasta el tope de la secuencia el número de partículas de carbón de gramíneas aumenta.

6. Perspectivas a futuro

Aunque cada vez el interés en la reconstrucción de incendios crece en la región neotropical, es importante que a la par de estos estudios también se realicen otros que permitan una calibración fina de la señal, pues las respuestas de las partículas de carbón vegetal están estrechamente relacionadas a las características específicas del sitio de estudio, esto es clave para mejores interpretaciones del pasado. Otra materia pendiente en el estudio del fuego es la disponibilidad de la información creada en Latinoamérica, es decir, es importante compartir los datos generados, como en el caso de la *base de datos mundial de material carbonizado*, pues permite hacer estudios que integren información regional, así como hacer modelación del patrón general de incendios. Finalmente, se hace necesario vincular la información generada por las paleo-reconstrucciones con los estudios del fuego en tiempo ecológico para generar información completa y útil que permita tomar mejores decisiones respecto al manejo del fuego, sobre todo en aquellos ecosistemas donde el fuego no ha sido parte de la variabilidad natural en su historia.

7. Agradecimientos

A Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, Instituto de Geología, UNAM, y al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IA101515, IA100714-2.

8. Referencias bibliográficas

- Benaglia T., Chauveau D., Hunter D., Young D. 2009. mixtools: An R package for analyzing finite mixture models. *Journal of Statistical Software*. 32: 1-29.
- Birks H.H., Birks H.J.B. 2006. Multi-proxy studies in paleolimnology. *Vegetation History and Archaeobotany*. 15: 235-251.
- Bond W.J., Keeley J.E. 2005. Fire as a global "herbivore": the ecology and evolution of flammable ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*. 20: 387-394.

- Bowman D.M.J.S., Balch J.K., Artaxo P., Bond W.J., J.M.C., Cochrane M.A., D'Antonio C.M., DeFries R.S., Doyle J.C., Harrison S.P., Johnston F.H., Keeley J.E., Krawchuk M.A., Kull C.A., Marston J.B., Moritz M.A., Prentice C., Roos C.I., Scott A.C., Swetnam T.W., Werf G., Pyne S.J. 2009. Fire in the Earth System. *Science*. 324: 481-484.
- Caffrey M., Horn S. 2014. Long-term fire trends in Hispaniola and Puerto Rico from sedimentary Charcoal: A comparison of Three Records. *The professional Geographer*. DOI:10.1080/00330124.2014.922017: 1-15.
- Cleveland W.S., Devlin S.J. 1988. Locally weighted regression: An approach to regression analysis by local fitting. *Journal of the American Statistical Association*. 83: 596-610.
- Cochrane M. 2009. Tropical fire ecology. Climate change, land use, and ecosystem dynamics. Springer Praxis.
- Cochrane M.A. 2002. Spreading Like Wildfire-Tropical Forest Fires in Latin America and the Caribbean: Prevention, Assessment and Early Warning. United Nations Environment Programme Panamá, 30 pp.
- Correa-Metrio A., Bush M.B. 2012. The late Quaternary in the Central American lowlands. An 86,000-year-long history of regional environmental response to global climate change. LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland, 148 pp.
- Courtney C., Pisaric M. 2014. A classification for macroscopic charcoal morphologies found in Holocene lacustrine sediments. *Progress in Physical Geography*. DOI:10.1177/0309133314548886: 1-21.
- Davies D., Kumar S., Desclotres J. 2004. Global fire monitoring using MODIS near-real-time satellite data. *GIM International*. 18: 41-43.
- Davis G.M. 2013. Understanding Fire Regimes and the ecological effects of fire. In: Belcher C.M. (ed.), *Fire phenomena and the Earth system: An interdisciplinary guide to fire science*. John Wiley and Sons, pp. 95-124.
- De Porras M., Maldonado A., Quintana F., Martel-Cea A., Reyes O., Méndez C. 2014. Environmental and climate changes in central Chilean Patagonia since the Late Glacial (Mallín El Embudo, 44° S). *Climate of the Past*. 10: 1063-1078.
- Duffin K.I., Gillson L., Willis K.J. 2008. Testing the sensitivity of charcoal as an indicator of fire events in savanna environments: quantitative predictions of fire proximity, area and intensity. *The Holocene*. 18: 279-291.
- Gardner J.J., Whitlock C. 2001. Charcoal accumulation following a recent fire in the Cascade Range, northwestern USA, and its relevance for fire-history studies. *The Holocene*. 11: 541-549.
- Gavin D.G., Hu F.S., Lertzman K., Corbett P. 2006. Weak climatic control of stand-scale fire history during the late Holocene. *Ecology*. 87: 1722-1732.
- Giglio L., Desclotres J., Justice C.O., Kaufman Y.J. 2003. An enhanced contextual fire detection algorithm for MODIS. *Remote Sensing of Environment*. 87: 273-282.
- Hardesty J., Myers R.L., Fulks W. 2005. Fire, ecosystems, and people: a preliminary assessment of fire as a global conservation issue. *The George Wright Forum*. 22: 78-87.
- Heusser C.J. 2003. Ice Age southern Andes: a chronicle of paleoecological events. *Developments in Quaternary Science 3*, Amsterdam.
- Higuera P.E., Gavin D.G., Bartlein P.J., Hallett D.J. 2010. Peak detection in sediment-charcoal records: impacts of alternative data analysis methods on fire-history interpretations. *International Journal of Wildland Fire*. 19: 996-1014.

- Hodell D.A., Anselmetti F.S., Aristegui D., Brenner M., Curtis J.H., Gilli A., Grzesik A., Guilderson T.J., Müller A.D., Bush M.B., Correa-Metrio A., Escobar J., Kutterolf S. 2008. An 85-ka record of climate change in lowland Central America. *Quaternary Science Reviews*. 27: 1152-1165.
- Huber U., Markgraf V. 2003. European impact on fire regimes and vegetation dynamics at the steppe-forest ecotone of southern Patagonia. *The Holocene*. 13: 567-579.
- Iglesias V., Whitlock C., Markgraf V., Bianchi M. 2014. Postglacial history of the Patagonian forest/steppe ecotone (41-43°S). *Quaternary Science Reviews*. 94: 120-135.
- Lozano-Garcia M.S., Sosa-Najera M.S., Sugiura Y., Caballero-Miranda M. 2005. 23,000 yr of vegetation history of the Upper Lerma, a tropical high-altitude basin in Central Mexico. *Quaternary Research*. 64: 70-82.
- Lynch J.A., Clark J.S., Stocks B.J. 2004. Charcoal production, dispersal, and deposition from the Fort Providence experimental fire: interpreting fire regimes from charcoal records in boreal forest. *Canadian Journal of Forest Research*. 34: 1642-1656.
- Myers R.L. 2006. Convivir con el fuego-Manteniendo los ecosistemas y los medios de subsistencia mediante el Manejo Integral del Fuego. The Nature Conservancy. Iniciativa Global para el Manejo del Fuego, USA.
- Patterson W., Edwards K., Maguire D. 1987. Microscopic charcoal as a fossil indicator of fire. *Quaternary Science Reviews*. 6: 3-23.
- Pickett S., White P. 1985. *The Ecology of Natural Disturbance and Patch Dynamics*. Academic Press, USA.
- Power M.J., Marlon J.R., Bartlein P.J., Harrison S.P. 2010. Fire history and the Global Charcoal Database: A new tool for hypothesis testing and data exploration. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 291: 52-59.
- Power M.J., Marlon J., Ortiz N., Bartlein P.J., Harrison S.P., Mayle F.E., Ballouche A., Bradshaw R.H.W., Carcaillet C., Cordova C., Mooney S., Moreno P.I., Prentice I.C., Thonicke K., Tinner W., Whitlock C., Zhang Y., Zhao Y., Ali A.A., Anderson R.S., Beer R., Behling H., Briles C., Brown K.J., Brunelle A., Bush M., Camill P., Chu G.Q., Clark J., Colombaroli D., Connor S., Daniau A.L., Daniels M., Dodson J., Doughty E., Edwards M.E., Finsinger W., Foster D., Frechette J., Gaillard M.J., Gavin D.G., Gobet E., Haberle S., Hallett D.J., Higuera P., Hope G., Horn S., Inoue J., Kaltenrieder P., Kennedy L., Kong Z.C., Larsen C., Long C.J., Lynch J., Lynch E.A., McGlone M., Meeks S., Mensing S., Meyer G., Minckley T., Mohr J., Nelson D.M., New J., Newnham R., Noti R., Oswald W., Pierce J., Richard P.J.H., Rowe C., Sanchez Gofii M.F., Shuman B.N., Takahara H., Toney J., Turney C., Urrego-Sanchez D.H., Umbanhowar C., Vandergoes M., Vanniére B., Vescovi E., Walsh M., Wang X., Williams N., Wilmshurst J., Zhang J.H. 2008. Changes in fire regimes since the Last Glacial Maximum: an assessment based on a global synthesis and analysis of charcoal data. *Climate Dynamics*. 30: 887-907.
- Pyne S.J. 2001. *Fire: a brief history*. Jeremy Mills Publishing.
- Quintana F., Bianchi M. 2010. Macroscopic charcoal analysis from lacustrine sediments as a methodology to reconstruct fire history: first results from Santa Cruz (50°-52°S), Argentina. *International ICDP-Workshop PASADO, Terra Nostra*, 56-57 pp.
- R Core Team 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.

- Sadori L., Giardini M. 2007. Charcoal analysis, a method to study vegetation and climate of the Holocene: The case of Lago di Pergusa (Sicily, Italy). *Geobios*. 40: 173-180.
- Scott A. 2000. The Pre-Quaternary history of fire. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 164: 281-329.
- Scott A., Glasspool I. 2006. The diversification of Paleozoic fire systems and fluctuations in atmospheric oxygen concentration. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 103: 10861-10865.
- Scott A.C. 2010. Charcoal recognition, taphonomy and uses in palaeoenvironmental analysis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 291: 11-39.
- Scott A.C., Bowman M.J., Bond W.J., Pyne S.J., Alexander M.E. 2013. *Fire on Earth: An introduction*. Wiley and Sons.
- Torres-Rodríguez E., Lozano-García S., Figueroa-Rangel B.L., Ortega-Guerrero B., Vázquez-Castro G. 2015. Cambio ambiental y respuestas de la vegetación de los últimos 17,000 años en el centro de México: el registro del lago de Zirahuén *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*. 29: 764-778.
- Whitlock C., Larsen C. 2001. Charcoal as a Fire Proxy. In: Smol J.P., Birks, H.J.B., Last, W.M. (ed.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments: Volume 3 Terrestrial, algal, and siliceous indicators*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 75-97.
- Whitlock C., Anderson R.S. 2003. Fire history reconstructions based on sediment records from lakes and wetlands. In: Veblen T.T., Baker, W.L., Montenegro, G., Swetnam, T.W. (ed.), *Ecological Studies*. Springer-Verlag, New York, pp. 3-31.
- Whitlock C., Moreno P., Bartlein P. 2007. Climatic controls of Holocene fire patterns in South America. *Quaternary Research*. 68: 28-36.
- Wright H.E. 1967. A square-rod piston sampler for lake sediments. *Journal of Sedimentary Research*. 37: 975-976.
- Xiang X., Shi Y., Yang J., Kong J., Lin X., Zhang H., Zeng J., Chu H. 2014. Rapid recovery of soil bacterial communities after wildfire in a Chinese boreal forest. *Scientific Reports*. 4: 1-8.

Indicadores zoológicos

Capítulo 7: Branchiopoda: Phyllophoda: Diplostraca: Cladocera

Yosahandy Vázquez-Molina, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, yosahandy.vzml@gmail.com, yosalu1@hotmail.com

Edyta Zawisza, Academia Polaca de Ciencia, Instituto de Ciencias Geológicas, Polonia, ezawisza@twarda.pan.pl

Liseth Pérez, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, lcpereza@geologia.unam.mx

Alexander Correa-Metrio, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, acorrea@geologia.unam.mx

Palabras clave: Bioindicadores, registro sedimentario, reconstrucciones ambientales.

1. Introducción

Los cladóceros son un grupo crustáceos acuáticos de tamaño pequeño ($\leq 3\text{mm}$) que se caracterizan por ser organismos filtradores de fitoplancton y bacterias. Se trata de consumidores primarios que constituyen la base alimenticia de otros grupos taxonómicos mayores como los peces (Elías Gutiérrez et al. 2008). Habitan principalmente en aguas dulces y se encuentran asociados al fondo o a las zonas litorales de las zonas más superficiales de los cuerpos de agua (plancton). Los cladóceros poseen un caparazón quitinoso de una sola pieza de apariencia bivalvo que cubre los apéndices dejando al descubierto solamente las antenas, las cuales son utilizadas para la locomoción. Gracias a su eficiente reproducción (tanto partenogénica como gametogénica), los cladóceros son capaces de responder a cambios ambientales rápidamente (Smol 2001). Su presencia y abundancia están determinadas principalmente por condiciones ambientales específicas, tales como temperatura, pH, conductividad, oxígeno disuelto, entre otros. Por esta razón, este grupo representa uno de los mejores indicadores de cambios ambientales en ambientes lacustres (Frey 1986). El exoesqueleto de los cladóceros está compuesto por quitina, la cual se preserva en los sedimentos lacustres por varios cientos, incluso miles de años. Por lo tanto el estudio de las comunidades fósiles de cladóceros en secuencias sedimentarias permite un seguimiento de la historia ambiental tanto de los cuerpos de agua como de la cuenca lacustre, a escalas geográficas que varían entre local y regional (Smol 2001).

En la región Neotropical existen muchos cuerpos de agua que están experimentando cambios en su estado trófico, sin embargo incluso conociendo el gran potencial del grupo como indicadores ambientales lacustres, los cladóceros no han sido muy utilizados en reconstrucciones ambientales en esta región. Los pocos estudios existentes son, en su mayoría, de carácter taxonómico basados en organismos actuales. La excepción son los estudios pioneros de Cowgill et al. (1996) en la laguna

Petenxil, en el norte de Guatemala donde utilizan a este grupo como indicador de las fluctuaciones del nivel del lago durante el Holoceno tardío (3,990 años AP). Adicionalmente se cuenta con un estudio desarrollado en un lago tropical de altura en el centro de México (Cuna et al. 2014) donde se utilizan a los cladóceros como indicadores de cambios ambientales pasados, particularmente durante la Pequeña Edad de Hielo (1,350-1,850 AD).

Este capítulo brinda información sobre la biología y el uso de cladóceros como indicadores acuáticos como así también los métodos que se utilizan para su estudio. Se incluye además un panorama general sobre las investigaciones realizadas en la región neotropical.

2. Biología de los cladóceros

Hábitat, ciclo de vida y reproducción

Los cladóceros se encuentran en casi todos los tipos de ambientes acuáticos conocidos (Elías Gutiérrez et al. 2008). Dentro de un cuerpo de agua los cladóceros pueden ocupar diferentes tipos de hábitats (Fig. 1), en la columna de agua predominan las especies nadadoras o pelágicas (principalmente representantes de las familias Daphniidae y Bosminidae), mientras que en la zona poco profunda o litoral se encuentran las especies asociadas a algún tipo de sustrato como rocas, arenas, lodo o vegetación (e.g. familia Chydoridae) (Hann 1989).

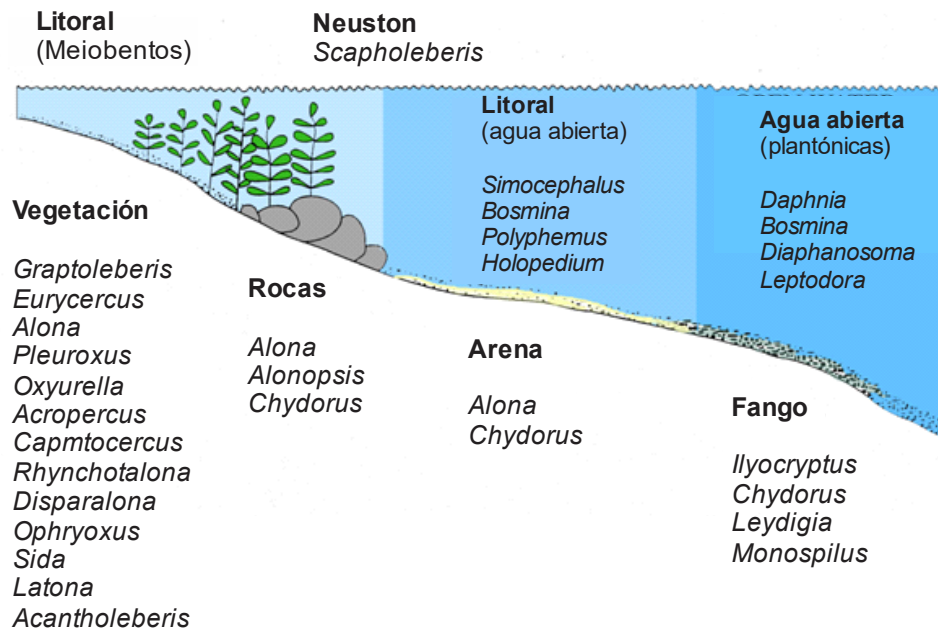


Figura 1. Zonación de un cuerpo de agua donde se muestran los diferentes tipos de hábitats para algunos géneros de cladóceros (Modificado de Hann 1989).

Los cladóceros presentan dimorfismo sexual; la hembra es generalmente más grande que el macho, siendo el macho más estudiado el de la especie *Daphnia magna* (Fig. 2-B). Sin embargo, la reproducción puede ser partenogénica y/o gametogénica (Fig. 2-A). En el primer caso existe una intensa producción de hembras cuyas generaciones se suceden por viviparidad, es decir hembras dan origen a otras hembras idénticas y no hay machos. Esto generalmente ocurre a un ritmo intenso (Fig.2). En momentos en que las condiciones ambientales son desfavorables, las hembras producen crías de ambos sexos mediante partenogénesis. La fecundación de éstas da por resultado hembras con huevos de resistencia llamados “efipios” que sedimentan en el fondo del lago, donde permanecen hasta que las condiciones se tornen favorables para la iniciación de una nueva etapa partenogénica (Ramírez 1981). Su desarrollo es directo, las crías nacen con un conjunto completo de apéndices y un caparazón bien desarrollado. Este tipo de reproducción es muy eficaz ya que produce una respuesta muy rápida de las comunidades a los cambios ambientales.

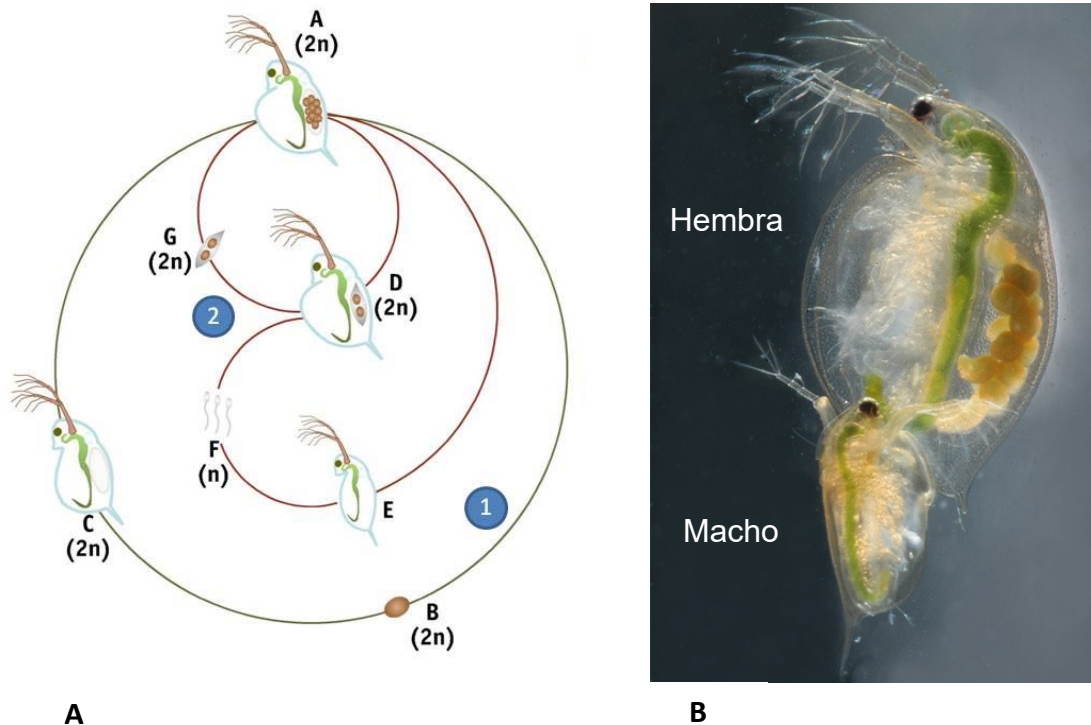


Figura 2. A. Ciclo de vida de un cladóceros: 1) reproducción partenogénica en la cual una hembra adulta (A) con huevos partenogénicos (B) da origen a la siguiente generación de hembras que serán genéticamente iguales cuando las condiciones sean estables (C). 2) reproducción gametogénica o sexual en la cual se generan machos (E) los cuales, bajo condiciones de estrés, fecundarán los huevos y (F) se formará un huevo de resistencia o efitio (D y G). **B.** Dimorfismo sexual en *Daphnia magna* (modificado de <https://enciclopediaanimal.wordpress.com/las-dafnias-o-daphnias/>).

Morfología, taxonomía y sistemática

Los cladóceros son microcrustáceos branquiópodos, exclusivamente acuáticos. Son transparentes y poseen un cuerpo comprimido lateralmente. Por su peculiar forma de nado, son conocidos popularmente como “pulgas de agua”. Se caracterizan por la presencia de un ojo compuesto grande, y un caparazón de apariencia bivalva de quitina que cubre el cuerpo débilmente segmentado. En muchos casos, se presenta un ocelo de tamaño mayor al ojo compuesto. El caparazón en algunas especies presenta estrías, espinas, orificios, hexágonos o retículas que sirven como características diagnósticas para su identificación taxonómica (Smol 2001). La parte posterior del cuerpo se compone del tórax y dentro del caparazón un abdomen, el cual termina en un par de garras, que pueden llegar a salir del caparazón (postabdomen). Varias especies tienen una extensión rígida del caparazón, espinas cerca de la base de las segundas antenas, dientes, espinas, o una larga cola al final del caparazón (Dodson y Frey 2001). La posición anatómica (Fig. 3) de cada apéndice se presenta en el siguiente orden:

En la cabeza se encuentran las anténulas la cuales son cilíndricas, uni o bi-segmentadas, las antenas bien desarrolladas de naturaleza natatoria, la mandíbula que es el apéndice bucal especializado para moler con movimiento rotatorio o de balanceo. En el tórax se encuentran apéndices torácicos cuyo número de apéndices torácicos es variable según los distintos órdenes y el número de segmentos del cuerpo. Esta característica es importante para diferenciar morfológicamente los cladóceros a nivel de infraorden.

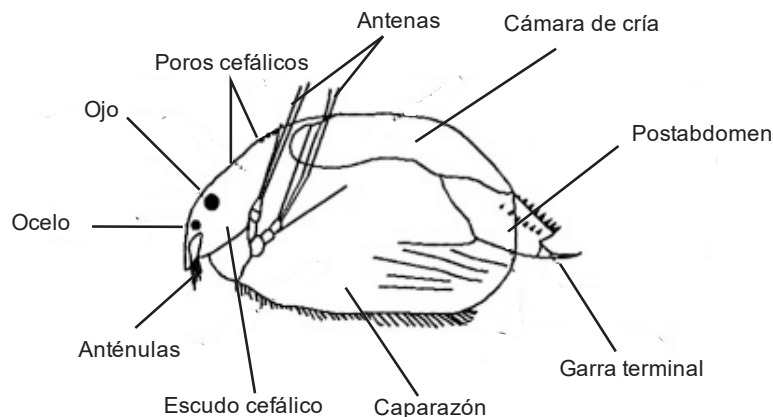


Figura 3. Morfología general de un cladóceros en la cual se muestran los principales caracteres diagnósticos para su identificación (modificado de Smol et al. 2001)

Los cladóceros constituyen un grupo monofilético y son un importante componente de la comunidad zooplanctónica de los sistemas acuáticos epicontinentales. El suborden cladócera en la actualidad está representado por cuatro infraórdenes (Ahyong et al. 2011). En la actualidad se conocen aproximadamente 620 especies y se considera que alrededor de 200 se encuentran en la región Neotropical

(Forró et al. 2008). Por su parte, en México se conocen alrededor de 160 especies (Martínez y Aguirre 2012). Sin embargo, al momento no existe un estimado sobre el número exacto de especies para el resto de la región neotropical.

La clasificación más reciente propuesta por Ahyong et al. 2011 es la siguiente:

- Subfilum Crustacea Brünnich 1772
 - Clase Branchiopoda Latreille 1817
 - Subclase Phyllopoda Preuss 1951
 - Orden Diplostraca Gerstaecker 1866
 - Suborden Cladocera Latreille 1829
 - Infraorden Ctenopoda Sars 1865 (2 familias)
 - Familia Holopediidae Sars 1865 (1 género, 3 spp.)
 - Familia Sididae Baird 1850 (7 géneros, 47 spp.)
 - Infraorden Anomopoda Stebbing 1902 (12 familias)
 - Familia Acantholeberidae (1 género, 1 sp.)
 - Familia Bosminidae Baird 1845 (2 géneros, 14 especies)
 - Familia Chydoridae Stebbing 1902 (49 géneros, 269 spp.)
 - Familia Daphniidae Straus 1820 (5 géneros, 121 spp.)
 - Familia Dumontidae (1 género, 1 sp.)
 - Familia Eurycercidae (1 género, 8 spp.)
 - Familia Gondwanotrichidae Van Damme, Shiel y Dumont 2007 (1 género, 1 sp.)
 - Familia Ilyocryptidae (1 género, 28 spp.)
 - Familia Macrothricidae Norman y Brady 1867 (11 géneros, 60 spp.)
 - Familia Moinidae (2 géneros, 29 spp.)
 - Familia Neothricidae (1 género, 3 spp.)
 - Familia Ophryoxidae (2 géneros, 3 spp.)
 - Infraorden Onychopoda Sars 1865 (3 familias)
 - Familia Cercopagididae Mordukhai-Boltovskoi 1968 (2 géneros, 13 spp.)
 - Familia Podonidae Mordukhai-Boltovskoi 1968 (7 géneros, 17 spp.)
 - Familia Polyphemidae Baird 1845 (1 género, 13 spp.)
 - Infraorden Haplopoda Sars 1865 (1 familia)
 - Familia Leptodoridae Lilljeborg 1900 (1 género, 1 sp.)

Evolución

El suborden Cladóceras es un antiguo grupo conocido al menos desde el Mesozoico, cuyo primer fósil data aproximadamente de 150 millones de años AP (Smirnov 1971a). Aunque la historia evolutiva de muchos braquiópodos fue de origen marino, únicamente un número restringido de especies de cladóceros se encuentran actualmente en sistemas salobres, siendo la excepción las especies *Podon pozyphemoides* (Leuckart 1859), y *Evadne nordmanni* (Lovon 1836). Otras especies como *Bosmina longispina maritima* muestran una preferencia por aguas salobres (Viitasalo et al. 1995; Ojaveer y Lumberg 1995). El bajo número de especies estrictamente marinas, se debe probablemente a la baja capacidad de las especies actuales para regular la presión osmótica (Frey 1993).

Ecología

Algunas especies presentan tolerancias ecológicas bastante amplias siendo capaces de colonizar varios tipos de ambientes acuáticos, mientras que otras especies se encuentran más restringidas a condiciones particulares y nichos ecológicos más estrechos (Flossner 1964; Amorós 1980). Los cladóceros juegan un papel importante en la cadena trófica, ya que son la vía de transferencia de materia y energía desde los microproductores primarios y las fuentes de detritus-bacteria hacia los niveles de consumidores superiores. De hecho, integran una parte importante de la dieta de varias especies de peces (Elías Gutiérrez et al. 2008). La mayoría de las especies muestran una preferencia por aguas oligotróficas y diluidas (concentraciones bajas de iones). Varios estudios realizados documentan fuertes correlaciones entre variables químicas y la distribución de los cladóceros (e.g. pH, alcalinidad, conductividad). Al parecer, el valor de pH crítico en el que incluso las especies tolerantes comienzan a declinar se encuentra alrededor de $\text{pH} \sim 5$ (DeCosta y Janicki 1978; Fryer 1993).

Biogeografía

La distribución de los cladóceros está controlada principalmente por dos factores: 1) su capacidad de dispersión, y 2) su tolerancia a una combinación de diversas condiciones ambientales. El primer factor incluye tanto la capacidad de locomoción de un organismo como sus estrategias para ser transportado por otras especies. El segundo se refiere a la capacidad de un organismo para sobrevivir las presiones biológicas de origen físico y químico en su nuevo hábitat. La distribución actual y los patrones de endemismo en los Neotrópicos son relativamente conocidos ya que el número de taxones ha ido en aumento con nuevas investigaciones. Hasta la fecha se sabe que la fauna Holártica cuenta con cuatro órdenes, tres familias, 13 géneros y alrededor de 250 especies endémicas, con mayor diversidad en la región Paleártica que en la Neártica (Fig. 4). Australia es rica en especies endémicas, una familia, una subfamilia, 11 géneros y ~83 especies. La región Oriental cuenta con un género y ~21 especies y para la región Neotropical se calculan ~98 especies endémicas. Para la región de África Tropical, aunque poco estudiada se sabe que cuenta con un género endémico y ~24 especies endémicas (Forró et al. 2008).

3. Metodología

Estudio de cladóceros modernos

Para la colecta de organismos modernos se utiliza una red de 50 μm de abertura de malla con la cual se realiza un arrastre vertical por aproximadamente 15 minutos. Mientras el agua se filtra a través de la malla, los cladóceros quedan atrapados en su interior. Si el cuerpo de agua cuenta con abundante vegetación se pueden dar pequeños golpes con la red sobre ésta y raspar un poco la vegetación o el sedimento.

Una vez obtenida la muestra se puede fijar con formol al 4% o alcohol al 70% (la ventaja de fijarlas con alcohol es que permitirá realizar análisis moleculares). La identificación de los organismos se realiza bajo microscopio estereoscópico o con microscopio óptico con un aumento de 40x.

Estudio de cladóceros en secuencias sedimentarias

Los restos de cladóceros suelen ser relativamente abundantes en los sedimentos del fondo de los lagos, por lo que usualmente basta con un volumen 1cm³ de sedimento fresco para su análisis. La técnica de extracción de los restos de cladóceros del sedimento consiste en los siguientes pasos (Frey 1986):

1. En un vaso de precipitados de 250 ml se coloca 1 cm³ de sedimento, se agregan 150 ml de una solución de KOH al 10% y se calienta en una placa caliente a 70 u 80°C durante 30 minutos. La mezcla debe agitarse constantemente con una varilla de vidrio de manera suave para no fragmentar los restos.
2. La mezcla de sedimento y KOH se vierte en tamiz de 50 µm, y se lava con agua corriente.
3. El contenido del tamiz se vierte en un tubo de 15 ml y se añade una o dos gotas de safranina para teñir los restos de cladóceros.
4. Se agita la mezcla y con el uso de una pipeta se toma una alícuota de 0.1 ml de la muestra teñida, la cual se monta sobre un portaobjetos y se observa al microscopio óptico a magnificaciones entre 10x y 40x.
5. Por lo general el análisis de dos portaobjetos es suficiente para identificar 200 restos de cladóceros, que es el número mínimo recomendado para el conteo por muestra.
6. Se deben contar todos los restos que se encuentren, caparazón, cabeza o escudo cefálico, y postabdómen (Fig.4). En casos en que se encuentren, también deben contarse los efiopios (Fig. 2).

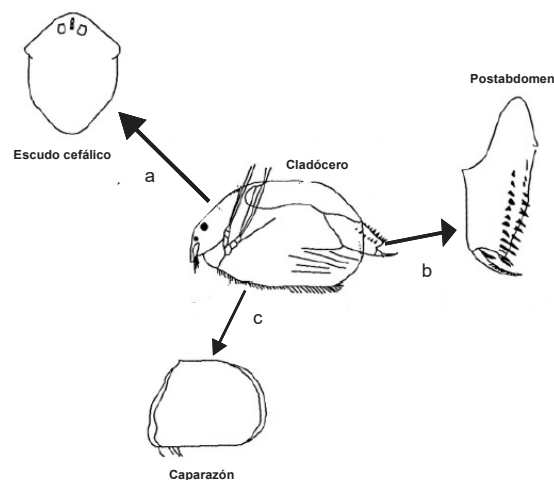


Figura 4. Partes más importantes del cuerpo de un cladótero usadas para la identificación de los restos en los sedimentos. a) Escudo cefálico, b) postabdómen, c) caparazón. (modificado de Smol et al. 2001)

Actualmente, no existe un manual único para identificar los restos de cladóceros, por lo que se tiene que recopilar información de diversas fuentes bibliográficas como atlas regionales, resúmenes faunísticos y claves ilustradas. Frey (1986) provee una lista completa de publicaciones que son útiles para la identificación de los restos cladóceros. Entre las más prácticas y también ampliamente utilizadas se encuentran: Brooks (1957, 1959), Frey (1958, 1959, 1960, 1962, 1965, 1982), DeCosta (1964), Goulden (1964), Goulden y Frey (1963), Megard (1967), Scourfield y Harding (1966), Smirnov (1971b) y Szeroczyńska, K. & Sarmaja-Korjonen, K. 2007.

4. El uso de los cladóceros como paleobioindicadores

Los estudios sobre cladóceros en México y Centroamérica se han basado principalmente en el conocimiento de la fauna actual, su ecología y el área de distribución de las especies (tabla 1).

Tabla 1. Muestra los principales estudios taxonómicos que se han realizado en el Centro América en base a la fauna actual de cladóceros.

Autor y año	Ubicación	Aporte
Ciros-Pérez <i>et. al.</i> (1996)	Estado de México y Aguascalientes	Describió la primera especie mexicana nueva para la ciencia <i>Macrothrix mexicanus</i> .
Ciros-Pérez & Elías-Gutiérrez (1997a, 1997b)		Se describe el segundo cladóceros mexicano <i>Macrothrix smirnovi</i> y el quidórido <i>Spinalona anophtalma</i> que fue nuevo género y especie.
Silva-Briano <i>et. al.</i> (1999)	Aguascalientes	Describieron a <i>Macrothrix sierrafriatiensis</i> .
Elías-Gutiérrez & Suárez-Morales (1999)	Yucatán	Descubren a <i>Alona pectinata</i> , considerada una especie común en el sur de la Península de Yucatán.
Castellanos-Osorio & Elías-Gutiérrez (1999)	Yucatán	Aportaron la distribución y abundancia de <i>Pseudevadne tergestina</i> en la Península de Yucatán.
Elías-Gutiérrez & Smirnov (2000)	Tabasco	Descubrieron otra especie mexicana, <i>Macrothrix marthae</i> .
Korovchinsky & Elías-Gutiérrez (2000)	Campeche	Registraron a una especie <i>Sarsilonata serricaudata</i> . Este material permitió la observación de machos, primer registro de esta especie en la región.
Suárez-Morales <i>et al.</i> (2000)	_____	Presentaron una obra actualizada que incluyó a 106 especies.

Dumont & Silva-Briano (2000)	Aguascalientes	Describen a <i>Karualona penuelasi</i> .
Elías-Gutiérrez <i>et al.</i> (2001)	Tabasco, Campeche y Quintana Roo	Describen una nueva serie de registros para estas localidades.
Dumont <i>et al.</i> (2002)	Aguascalientes	Describieron a <i>Macrothrix agsensis</i> , otra especie nueva para la localidad.

México y Centroamérica

En México, los estudios con cladóceros comienzan a principios del siglo 20 a partir de una expedición liderada por Juday (1915), quien elaboró el primer escrito sobre cladóceros mexicanos registrando 14 especies en tres localidades cercanas a la ciudad de México. Desde ese momento, México participa activamente en la investigación sobre la sistemática de cladóceros habiéndose descrito nuevas especies, incluso nuevos géneros en los últimos años (por ejemplo Ciros-Pérez y Elías-Gutiérrez 1997a, 1997b; Elías-Gutiérrez y Suárez-Morales 1999; Elías-Gutiérrez y Smirnov 2000; Kotov *et al.* 2001, 2005).

Las grandes áreas húmedas tropicales de las tierras bajas del sureste de México presentan gran diversidad biótica (e.g. Oaxaca, Chiapas, Quintana Roo, Tabasco, Campeche), sin embargo aún es escaso el conocimiento de la biodiversidad de cladóceros, incluso los ambientes desérticos y semidesérticos como los estados de Nuevo León, Tamaulipas, Sonora, Chihuahua, Baja California son ambientes potenciales para el estudio de cladóceros ya aportarían información importantes sobre la distribución y biogeografía del grupo. Hay varios estados mexicanos para los cuales no existen registros de cladóceros (Suarez-Morales *et al.* 1998). Sin lugar a dudas, la fauna de cladóceros en la región central (principalmente los estados de México y Aguascalientes) han sido los más estudiados ya que cada uno cuenta con más de 40 especies registradas (Tabla 1).

En cuanto al estudio de cladóceros fósiles en México y Centroamérica, los estudios más importantes realizados son los de Frey (1958, 1959, 1960, 1995). Estos trabajos logran identificar restos de estos organismos y aplicar asociaciones de los distintos ensambles de especies en reconstrucción paleolimnológicas. El primer intento por identificar microfósiles pertenecientes a este grupo en la región se realizó en el Lago Petenxil, Guatemala, y tuvo un alcance temporal de ~3990 AP (Cowgill *et al.* 1966). A pesar de carecer de información sobre la taxonomía de las especies en la región, en ese estudio se identificaron 26 morfotaxones, de los cuales solo una morfoespecie fue planctónica, *Bosmina tubicen* perteneciente a la familia Bosminidae. Los autores interpretan que la alta diversidad de cladóceros pertenecientes a la familia Chydoridae en ese lago en particular estuvo asociada a actividades agrícolas desarrolladas en la cuenca de captación del lago a través del periodo estudiado.

De los estudios más recientes realizados con cladóceros fósiles se destaca el que se realizó en el centro de México en un lago de altura del nevado de Toluca (Cuna et al. 2014). En este estudio multidisciplinario se infieren cambios climáticos utilizando susceptibilidad magnética, palinomorfos, cladóceros, diatomeas, y partículas de carbón. Particularmente para los cladóceros, se reportaron 5 especies *Alona manuei*, *Alonella pulchella*, *Chydorus cf. sphaericus*, *Ilyocryptus nevadensis*, y *Daphnia longispina*. De estos taxones se conoce su ecología por ejemplo *I. nevadensis* y *A. manuei* junto con la especie planctónica *D. longispina*, son especies tolerantes a bajas concentraciones de nutrientes y bajos valores de pH (Alonso 1996). Por otro lado, *A. pulchella* es una especie que se encuentra comúnmente en el agua fría de los lagos del norte de Estados Unidos y Canadá, siendo su hallazgo en el Nevado de Toluca el primer registro de la especie en México. *Chydorus cf. sphaericus* resulta altamente tolerante a condiciones climáticas adversas especialmente a las aguas frías y bajo estado trófico. En el ensamble de cladóceros dominaron las especies litorales endémicas *I. nevadensis* y *A. manuei* y la especie planctónica *D. longispina*. Las fluctuaciones de las especies permitieron inferir una tendencia hacia un enfriamiento a partir de ~1350 AD, y un episodio frío y seco entre ~1660 y 1760 AD, caracterizado por un ensamble de cladóceros pertenecientes a especies de agua fría y gran cantidad de epiopios de *Daphnia* (Fig. 5, zona 2)

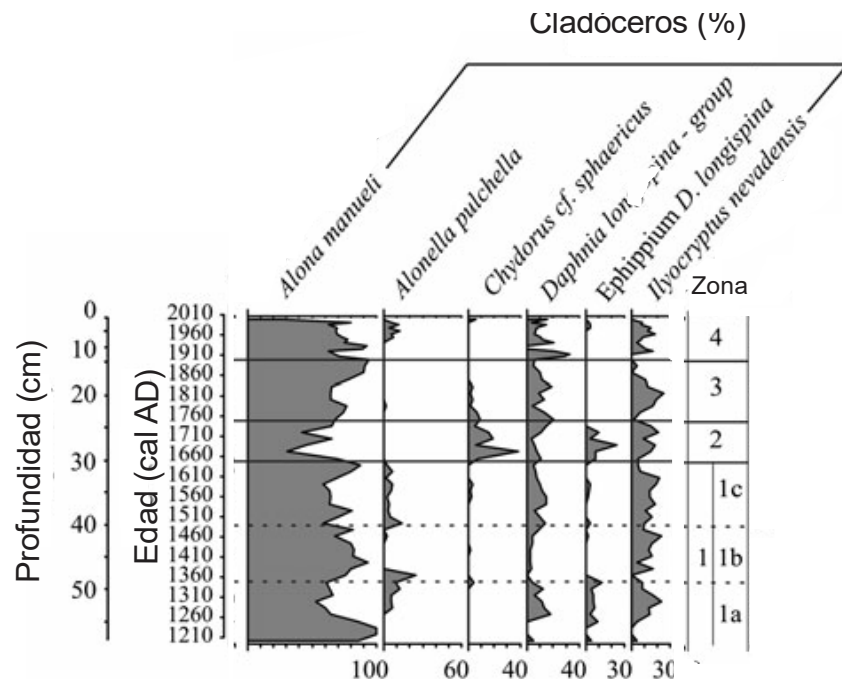


Figura 5. Diagrama de ensamble de cladóceros presentes en el Lago de altura en el nevado de Toluca. En él se muestran las diferentes zonas en las que fue dividido por la presencia/ausencia y disminución de especies de cladóceros a lo largo de la secuencia sedimentaria. A partir de la zona dos se observa una disminución en la temperatura por la presencia de *Chydorus cf. sphaericus* y los huevos de *D. longispina* (modificado de (Cuna et al. 2014)

Sudamérica

Los estudios de cladóceros en Sudamérica, toman como base el conocimiento y distribución de la fauna actual. En Argentina, Chile y Bolivia se han realizado la mayor cantidad de investigaciones sobre el conocimiento de la fauna de cladóceros actuales tanto en lagos como en lagunas salobres (e.g. Echaniz et al. 2005). En la Pampa Argentina se reportan cinco especies de cladóceros de agua salada endémicas de aguas tropicales: *Daphnia menucoensis*, *Alona diaphana*, *Latonopsis occidentalis*, *Moina cf. euganiae* y *Monia macrocopa*.

En Chile, específicamente en la región de la Araucanía, se estudió la composición de especies de las familias Sididae, Daphniidae, Bosminidae y Chydoridae en 22 cuerpos de agua dulce (Parra-Coloma 2014). El estudio reportó catorce especies, una de la familia Sididae, cinco de la familia Daphniidae, una de la familia Bosminidae y siete de la familia Chydoridae. La familia Daphniidae fue la única presente en todos los cuerpos de agua, destacando las especies *Ceriodaphnia dubia* y *Daphnia pulex* como las más abundantes.

En la región de Cochabamba, Bolivia, se analizaron 22 puntos en la laguna de Alaya en el cual identificaron quince especies pertenecientes a seis familias, Sididae, Daphniidae, Moinidae, Bosminidae, Macrothricidae y Chydoridae siendo Chydoridae la familia más abundante con ocho especies como nuevos registros para esta laguna (Junco 1997).

5. Perspectivas a futuro

Este capítulo se ha enfocado en el estado actual del conocimiento taxonómico, ecológico y paleoecológico de los cladóceros. Presenta además breve resumen sobre los trabajos realizados en la región Neotropical. Sin embargo, aún quedan regiones sin estudiar o con poca información de este grupo de microcrustáceos tanto actuales como de subfósiles. Es por esto que se hace necesario investigar de manera exhaustiva la taxonomía del grupo mediante la diagnosis de especies tropicales, la ecología y distribución de los cladóceros para facilitar la integración de los estudios ecológicos actuales con los estudios paleoecológicos.

A pesar de ser un grupo que presenta altas abundancias en las aguas continentales, los cladóceros han sido y siguen siendo poco estudiado a nivel mundial por lo tanto es preciso aumentar los esfuerzos para realizar muestreos a lo largo de gradientes latitudinales y altitudinales para aumentar el conocimiento sobre la biodiversidad de este grupo y sus preferencias ecológicas lo cual es requisito necesario para abordar estudios cuantitativos de reconstrucción paleoambiental.

6. Agradecimientos

A la facultad de Ciencias, Instituto de Geología de la UNAM y al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IA101515, IA100714-2.

7. Referencias bibliográficas

- Ahyong S., Lowry J., Alonso M., Bamber R., Boxshall G., Castro P., Gerken S., Karaman G., Goy J., Jones D., 2011. Subphylum Crustacea Brünnich, 1772. *Zootaxa* 3148, 165-191.
- Alonso, M. 1996. Crustacea Branchiopoda. Fauna Iberica, vol. 7. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales, 486 pp.
- Amoros C. 1980. Structure et fonctionnement des ecosistemas du Haut-Rhone francais, 15: Structure des peuplements de cladoceres et copepodes de deux anciens meandres d'age differents. *Acta Oecologica. Oecologia Generalis*.
- Brooks J.L. 1957. The systematics of North American *Daphnia*. *Mem. Conn. Acad. Arts Sci.* 13:1–180.
- Brooks J.L. 1959. Cladocera. In Edmondson, W. T. (ed.) *Freshwater Biology*. 2nd Edition. John Wiley & Sons: 587–656.
- Ciros-Pérez J., Elías-Gutiérrez, M. 1997a. *Macrothrix smirnovi*, a new species (Crustacea: Anomopoda: Macrothricidae) from Mexico, a member of the *M. triserialis*-group. *Proceedings-Biological Society of Washington*, 110, 115-127.
- Ciros-Pérez, J., Elias-Gutiérrez, M. 1997b. *Spinalona anophthalma*, n. gen. n. sp.(Anomopoda, Chydoridae) a blind epigean cladoceran from the Neovolcanic Province of Mexico. *Hydrobiologia* 353, 19-28.
- Ciros-Pérez, J., Silva-Briano, M., Elías-Gutiérrez, M. 1996. A new species of *Macrothrix* (Anomopoda: Macrothricidae) from central Mexico. *Hydrobiologia* 319, 159-166.
- Cowgill U., Hutchinson, G., Racek, A., Goulden, C., Patrick, R., Tsukada, M. 1966. The history of Laguna de Petenxil: A small lake in Northern Guatemala. *Memoirs of the Connecticut Acad Arts Sci* 17:1–126.
- Cuna E., Zawisza E., Caballero M., Ruiz-Fernández A., Lozano-García S., Alcocer J. 2014. Environmental impacts of Little Ice Age cooling in central Mexico recorded in the sediments of a tropical alpine lake. *Journal of Paleolimnology*, 51, 1-14.
- DeCosta J., 1964. Latitudinal distribution of chydorid Cladocera in the Mississippi Valley, based on their remains in surficial lake sediments. *Invest. Indiana Lakes & Streams* 6: 65–101.
- DeCosta J., Janicki A. 1978. Population dynamics and age structure of *Bosmina longirostris* in an acid water impoundment. *Verh. int. Ver. Limnol.* 20: 2479-2483.
- Dodson S.I., Frey D.G. 2001. Cladocera and other branchiopoda. Pages 849-913 in J. H. T. P. Covich, editor. *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates (Second Edition)*. Academic Press, San Diego.
- Dumont, H.J. & Silva-Briano, M. 2000. *Karualona* n. gen.(Anomopoda: Chydoridae), with a description of two new species, and a key to all known species. *Hydrobiologia*, 435, 61-82.
- Dumont, H.J., Silva-Briano, M. & Babu, K.S. 2002. A re-evaluation of the *Macrothrix rosea-triserialis* group, with the description of two new species (Crustacea Anomopoda: Macrothricidae). *Hydrobiologia*, 467, 1-44.

- Echaniz S., Vignatti, A., de Paggi, S.J., Paggi, J., 2005. Riqueza y composición del zooplancton de lagunas saladas de la región pampeana argentina. FABICIB 9, 25-39.
- Elías-Gutiérrez M., Suárez-Morales, E. 1999. *Alona pectinata* (Crustacea: Anomopoda; Chydoridae), a new freshwater cladoceran from Southeast Mexico. Rev. Biol. Trop, 47, 105-111.
- Elías-Gutiérrez M., Smirnov N. 2000. *Macrothrix marthae*, a new species (Crustacea: Anomopoda: Macrothricidae), a highly specialized macrothricid from Mexico. Proceedings of the Biological Society of Washington, 113, 652-660.
- Elías Gutiérrez M., Suárez Morales E., Gutiérrez Aguirre M.A., Silva Briano M., Granados Ramírez J.G., Garfias Espejo T. 2008. Cladocera y copepoda de las aguas continentales de México: guía ilustrada. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, México.
- Flössner D. 1964. Zur Cladocerenfauna des Stechlinsee-Gebietes II. Ökologische Untersuchungen über die litoralen Arten. Limnologica (Berlin), 2, 35-103.
- Frey D.G. 1958. The late-glacial cladoceran fauna of a small lake. Arch. Hydrobiol. 54: 209-275.
- Frey D.G. 1959. The taxonomic and phylogenetic significance of the head pores of the Chydoridae (Cladocera). Int. Revue ges. Hydrobiol. 44: 27-50.
- Frey D.G. 1960. The ecological significance of cladoceran remains in lake sediments. Ecology 41: 684-698.
- Frey D.G. 1962. Cladocera from the Eemian Interglacial of Denmark. J. Palaeontol. 36: 1133-1154.
- Frey D.G. 1965. Differentiation of *Alona costata* Sars from two related species (Cladocera, Chydoridae). Crustaceana 8: 159-173.
- Frey D.G. 1982. Relocation of *Chydorus barroisi* and related species (Cladocera, Chydoridae) to a new genus and descriptions of two new species. Hydrobiologia 86: 231-269.
- Frey B.S., Pamini, P. 1986. Cladocera analysis. In: Berglund, Be (Ed.): Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology: 677-692.
- Frey D. 1995. Changing attitudes toward chydorid anomopods since 1769. Hydrobiologia, 307, 43-55.
- Fryer G. 1993. The Freshwater Fauna of Yorkshire. A Faunistic and Ecological Survey. Yorkshire Naturalists' Union & Leeds Philosophical & Literary Society, 312 pp.
- Forró L., Korovchinsky N.M., Kotov A.A., Petrusek A.. 2008. Global diversity of cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. Pages 177-184 in E. V. Balian, C. Lévêque, H. Segers, and K. Martens, editors. Freshwater Animal Diversity Assessment. Springer Netherlands.
- Goulden C.E. 1964. The history of the Cladoceran fauna of Esthwaite water (England) and its limnological significance. Arch. Hydrobiol. 60: 1-52.
- Goulden C.E., Frey D.G. 1963. The occurrence and significance of lateral head pores in the Genus *Bosmina* (Cladocera). Int. Revue ges. Hydrobiol. 48: 513-522.
- Hann B.J. 1989. Cladocera. Methods in Quaternary Ecology. Geosci. Canada 16: 17-26.
- Juday C. 1915. Limnological studies on some lakes in Central America. Transactions of the Wisconsin Academy of Sciences, Arts, and Letters, 18, 214.
- Junco L.M. 1997. Estructura de la comunidad de cladoceros en la laguna Alalay (Cochabamba, Bolivia). Revista Boliviana de Ecología y Conservación Ambiental, 3: 47-58.

- Kotov A., Elías-Gutiérrez M., Gutiérrez-Aguirre M. 2001. *Ilyocryptus paranaensisinarmatus* subsp. nov. from Tabasco, Mexico (Cladocera, Anomopoda). *Crustaceana*, 74, 1067-1082.
- Kotov A.A., Elías-Gutiérrez M., Granados-Ramírez J.G. 2005. *Moina dumonti* sp. nov. (Cladocera, Anomopoda, Moinidae) from southern Mexico and Cuba, with comments on moinid limbs. *Crustaceana*, 78, 41-57.
- Martínez A.C., Aguirre M.A.G. 2012. Especies de zooplancton dulceacuícola de Cozumel. Cozumel, Quintana Roo, México. Universidad de Quintana Roo, 59 pp.
- Megard R.O. 1967. Three new species of *Alona* (Cladocera, Chydoridae) from the United States. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 52: 37–50.
- Ojaveer H., Lumberg A., 1995. Gulf of Riga ecosystem. *Proc. Estonian Acad. Sci. Ecol* 5, 20-25.
- Parra-Coloma L., 2014. Distribución y diversidad de Cladóceros (Sididae, Daphniidae, Bosminidae y Chydoridae) en la región de la Araucanía (38°-39°S). *Sustainability Agri- Food Environmental Research (SAFER)*, 2(4): 58-64.
- Ramírez F. 1981. Cladocera. Atlas del zooplankton del atlántico sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplankton marino. Mar del Plata: INIDEP. 533-541.
- Scourfield D.J., Harding J.P. 1966. A key to the British Freshwater Cladocera. Freshwater Biological Association, Windermere. Third edition, 1966. (Reprinted 1994), 61 pp.
- Szeroczyńska, K. & Sarmaja-Korjonen, K. 2007. Atlas of subfossil Cladocera from central and northern Europe. Friends of the lower Vistula Society, Swiecie. First edition, 83 pp.
- Smol J.P., Last W.M., Birks H.J. 2001. Tracking Environmental Change Using Lake Sediments: Volume 4: Zoological Indicators (Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands), 41pp.
- Smirnov N.N. 1971a. Fauna of the U.S.S.R., Crustacea. Academy of Sciences of the U.S.S.R. 1(2). Translated from Russian, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1974, New Series no. 101.
- Smirnov N.N. 1971b. A new species of *Archedaphnia* (Cladocera, Crustacea) from Jurassic deposit of Transbaykal. *Paleont. J. (In Russian)* 5: 391–392.
- Suárez-Morales E., Rivera-Arriaga E. 1998. Zooplancton e hidrodinámica en zonas litorales y arrecifales de Quintana Roo, México. *Hidrobiológica* 8, 19-32.
- Viitasalo M., Vuorinen I., Saesmaa S. 1995. Mesozooplankton dynamics in the northern Baltic Sea: implications of variations in hydrography and climate. *Journal of Plankton Research* 17, 1857-1878.

Capítulo 8: Crustacea: Ostracoda

Liseth Pérez, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México, lpereza@geologia.unam.mx

Cecilia Laprida, Instituto de Estudios Andinos “Don Pablo Groeber”, CONICET- Universidad de Buenos Aires, Argentina, chechu@gl.fcen.uba.ar

Gabriela Cusminsky, INIBIOMA CONICET- Centro Regional Universitario Bariloche, Universidad del Comahue, Argentina, gcusminsky@gmail.com

Palabras clave: Ostrácodos, partes duras y blandas, niveles del lago, conductividad, sets de calibración

1. Introducción

Los ostrácodos lacustres se encuentran entre los organismos sensibles a las variaciones ambientales con uno de los registros fósiles más completos dentro del reino animal debido a la excelente preservación de sus valvas carbonatadas. A diferencia de otros microcrustáceos, sus partes blandas se encuentran protegidas por un caparazón bivalvo de carbonato de calcio que carece de líneas de crecimiento. El amplio registro temporal y ambiental de este grupo permite aplicarlos a la resolución de estudios geológicos y paleontológicos, ya sea bioestratigráficos o como herramientas de reconstrucción ambiental y en análisis de cuencas. En el campo de la biología, el estudio de los Ostracoda permite aportes en biología evolutiva, biología molecular, la (paleo-) biogeografía, la (paleo-) ecología, la (paleo-) limnología y la (paleo-) oceanografía; las aplicaciones paleoclimáticas de ostrácodos a menudo combinan e integran varias de estas disciplinas. Múltiples estudios han demostrado la utilidad de los ostrácodos como indicadores de cambios de temperatura, salinidad, química del agua y profundidad. Sin embargo, pocas de estas investigaciones se han efectuado en la región Neotropical, y su potencial como bioindicadores en estudios neo- y paleolimnológicos ha sido poco explotado. Estudios taxonómicos y, en menor número, ecológicos se han realizado en México, Guatemala, Nicaragua, Colombia, Argentina, Chile y el Caribe. Aún menor es el número de trabajos donde se analizan los ensamblajes fósiles en secuencias sedimentarias del Cuaternario tardío. Hasta la fecha, una de las zonas donde se ha reportado una mayor diversidad es la Península de Yucatán, norte de los Neotrópicos, donde se ubica uno de los registros más continuos y extensos (~300 ka AP): el lago Petén Itzá, Guatemala. Aquí, los ostrácodos han permitido la reconstrucción cuantitativa de la conductividad y niveles del lago. Otros registros en los cuales los ostrácodos han sido utilizados como indicadores paleohidrológicos son los de los lagos Wallywash Great Pond, Jamaica (~125 ka AP) y Miragoane, Haití (~10.5 ka AP). Para Sudamérica, los principales estudios son los realizados en el Lago Titicaca, el altiplano chileno y la Patagonia argentina, incluyendo el lago Cardiel, donde se han utilizado los ensamblajes para las inferencias de las fluctuaciones en el nivel del lago

durante los últimos ~15.7 ka AP. En las llanuras templadas de Sudamérica, su estudio ha permitido la reconstrucción de estados alternativos en escalas multiseculares desde al menos el Holoceno Medio.

El objetivo del presente capítulo es brindar información sobre la biología y el potencial de los ostrácodos como bioindicadores acuáticos, presentar los lineamientos metodológicos básicos para su estudio y describir el estado actual del conocimiento sobre la fauna actual y fósil en la región Neotropical, con especial énfasis en los trabajos desarrollados por nuestros grupos de investigación, los que consideramos resaltan la importancia del uso de los ostrácodos en estudios paleolimnológicos y paleoclimáticos neotropicales.

2. Biología

Hábitat, ciclo de vida y reproducción

Los ostrácodos ocupan prácticamente todos los ecosistemas acuáticos, desde los fondos batiales oceánicos a los cuerpos de agua continentales permanentes y temporarios, e incluso suelos con hojarasca y los ambientes hipógeos. Como grupo posee una gran plasticidad ecológica basada en la tolerancia a las más diversas condiciones ambientales, la adquisición de diferentes tipos de alimentación y en la diversificación de los modos reproductivos, lo que les permite ocupar la mayor parte de ambientes acuáticos a excepción del planctónico en aguas salobres y ambientes no marinos (Horne et al. 2002). Las especies lacustres son endobentónicas, fitales o nectobentónicas, pero su capacidad de desplazamiento es relativamente limitada.

Los ostrácodos poseen sexos separados y reproducción sexual. Algunos géneros pueden exhibir un marcado dimorfismo sexual. La mayor parte de las especies presentan reproducción bisexual, en la cual machos y hembras se aparean por fecundación interna. Algunas especies, sin embargo, se reproducen por partenogénesis: es el caso de las “antiguas especies asexuales” de la Superfamilia Darwinuloidea, las que se han reproducido exclusivamente por partenogénesis durante al menos los últimos 200 Ma. Algunas especies poseen partenogénesis facultativa. Si bien la existencia de especies partenogenéticas favorece la colonización de nuevos hábitats, la mayoría de las hipótesis ecológicas lidian con el hecho de que *antiguos asexuales*, en ausencia de recombinación sexual, deberían haber perdido potencial para evolucionar (y así adaptarse) a cambios ambientales, ya sean bióticos o abióticos, tan frecuentes en los ambientes continentales (Schön et al. 2009).

Los huevos eclosionan pocas semanas después de la fecundación. Los ostrácodos carecen de larvas y suelen tener hasta 8 estadios juveniles que crecen por ecdisis; los adultos adquieren los caracteres sexuales definitivos y normalmente no mudan (Horne et al. 2002). Dado que los ostrácodos no tienen ninguna etapa larvaria

pelágica, su dispersión en los ambientes marinos ocurre por sucesiva ocupación de ecosistemas representados por masas de agua (especies pelágicas) o sedimentos e interface de agua-sedimento (especies bentónicas).

En el caso de los representantes no marinos, la dispersión es favorecida por la existencia de huevos de resistencia y estadíos resistentes a la desecación. Así los intercambios intercontinentales ocurren por la dispersión de los huevos por los vientos, las migraciones de aves, o incluso por anfibios, insectos y, en los últimos tiempos, por los seres humanos.

Morfología y Taxonomía

Los Ostracoda son Arthropoda que parecen carecer de sinapomorfias. Suelen estar definidos por la combinación de cinco caracteres (en todos los estadios) que les brinda unidad taxonómica (Fig. 1) (Horne et al. 2005):

1. cuerpo completamente cerrado por un caparazón bivalvo que carece de líneas de crecimiento (excepto en estadios tempranos univalvos en Puncioidea).
2. un máximo de 9 pares de apéndices: anténula, antena, mandíbula, maxilula, primer pata torácica, segunda pata torácica, tercera pata torácica, órgano copulatorio (urópodos en Puncioidea), y furca.
3. cada par de apéndices diferentes de los demás.
4. el apéndice anterior a la furca en los machos es un miembro copulador llamativamente grande, complejo y generalmente par.
5. el cuerpo muestra poca o ninguna segmentación, con un máximo de 10 segmentos en el tronco.

El caparazón de los Ostracoda es de calcita con bajo contenido en magnesio y es secretado dentro de la epidermis, formando la cara externa de las valvas (lamela externa) y la parte periférica de la cara interna de las valvas (lamela interna). Se compone de dos valvas articuladas dorsalmente por una charnela. El caparazón se cierra por la acción de los músculos aductores que se unen en la parte subcentral de la superficie interna de las valvas. Las marcas de estos músculos forman cicatrices que son características de las diferentes superfamilias (Horne et al. 2002).

Otras características diagnósticas importantes de la superficie interna de las valvas son la charnela, la zona marginal, el número y disposición de los poros normales que atraviesan perpendicularmente las valvas, y los poros marginales que recorren la zona marginal entre la lamela externa calcificada y la lamela interna calcificada. La

morfología externa de valvas u ornamentación puede ser extremadamente variable con una superficie lisa, punteada, reticular o poseer espinas, crestas o tubérculos. El patrón general de la ornamentación es una característica diagnóstica a nivel genérico y específico, aunque puede existir cierta variabilidad ontogenética, dimorfismo sexual y variaciones ecofenotípicas (Horne et al. 2002).

El caparazón de los Ostracoda tiene un alto potencial de fosilización y es frecuentemente conservado en los sedimentos lacustres. No sólo protege al organismo contra los peligros potenciales del ambiente donde vive, sino que también registra la señal geoquímica e isotópica del agua al momento de precipitación del biomineral (Schwalb 2003).

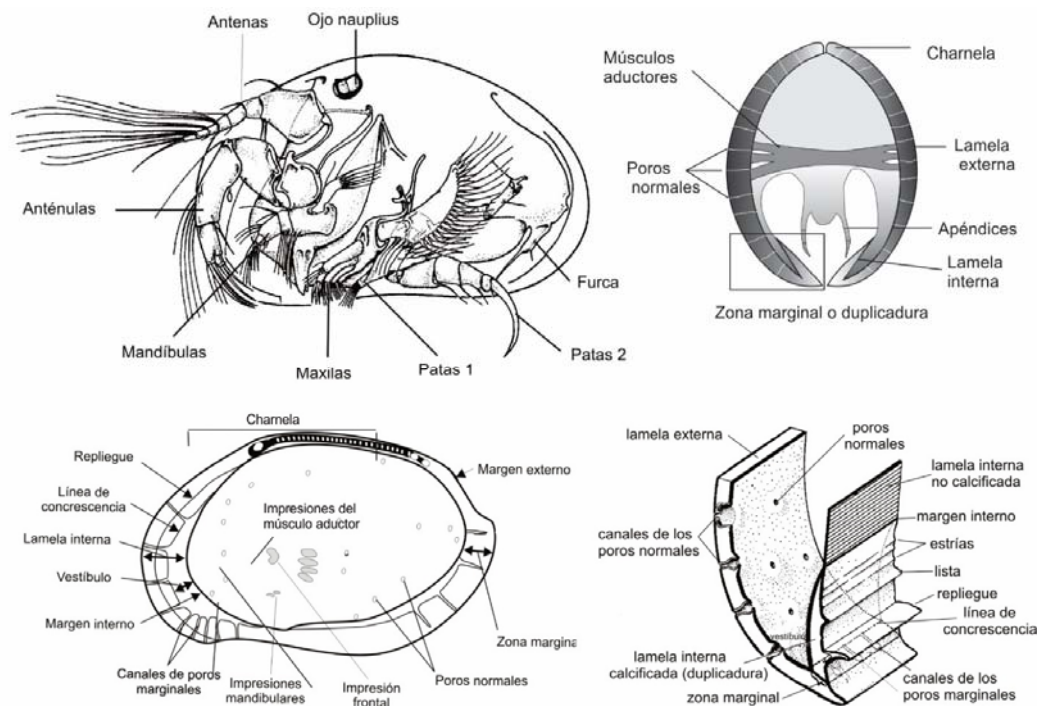


Figura 1. Morfología general de las partes blandas (apéndices) y las partes duras (valvas) de un ostrácodo perteneciente al Orden Podocopida. (Modificado de Laprida y Ballent 2008).

Evolución

Los ostrácodos tienen el más completo registro fósil de los artrópodos, extendiéndose por unos 450 millones de años (Ma). El Ordovícico (485-443 Ma) fue un período de gran diversificación biológica y es dentro de este escenario evolutivo cuando se originan todos los órdenes de ostrácodos, los que habitaron exclusivamente los ambientes marinos durante la mayor parte del Paleozoico. Las aguas no-marinas fueron invadidas por primera vez en el Carbonífero temprano por los Carbonitoidea, podocopidos de

afinidad incierta que se extinguieron al final del Pérmico, y los Darwinuloidea. Los cytheroideos, predominantemente marinos en el Paleozoico, produjeron hasta siete diferentes invasiones hacia hábitats no marinos, algunos de éstas con gran éxito, en particular entre el Jurásico y el Cretácico. A partir del Paleoceno la diversidad de ostrácodos aumentó especialmente en los Podocopina. Los ostrácodos cuaternarios son descendientes de estos linajes con las novedades adaptativas del Neógeno tardío y el Pleistoceno temprano, con la migración hacia aguas salobres y aguas menos profundas por parte de ciertos cytheroideos marinos (Loxoconchidae, Leptocytheridae, Xestoleberididae), y la adopción de hábitats (semi-) terrestres por algunos cypridoideos (Candonidae, Cyprididae) y darwinuloideos. Actualmente, los ensamblajes no marinos están conformados principalmente por especies de la superfamilia Darwinuloidea, especies de la superfamilia Cypridoidea, y la familia Limnocytheridae (Cytheroidea) (Martens et al. 2008).

Sistemática

Los Ostracoda son considerados una clase dentro de Crustacea o bien una subclase dentro de Maxillopoda. Su carácter monofilético es discutido por la separación taxonómica que existe entre los dos grupos de Ostracoda vivientes: las subclases Myodocopa y Podocopa. La morfología de los apéndices permite establecer una mayor afinidad entre los Podocopa y ciertos grupos troncales de Crustacea del Cámbrico (Bradoriida, Phosphatocopina), mientras que los Myodocopa parecen haber evolucionado posteriormente en el Paleozoico. Los criterios utilizados para la clasificación se basan simultáneamente en la morfología de las "partes blandas" (principalmente apéndices) y las "partes duras" (valvas calcificadas). La ausencia de partes blandas en ostrácodos fósiles (salvo en circunstancias excepcionales de preservación) hace imperativa la definición de morfologías del caparazón con valor taxonómico especialmente en taxones extintos. Afortunadamente, la mayoría de las especies cuaternarias tienen representantes vivos y su taxonomía puede basarse en la consideración de la morfología como un todo, ya que las características morfológicas de las partes duras son también útiles para describir los ostrácodos recientes (Yassini y Jones 1995); como ciertas partes blandas pueden quedar reflejadas como impresiones en el interior de las valvas, el conocimiento de las partes blandas y su correspondencia con las duras permite interpretar taxonómicamente ciertos rasgos morfológicos de las valvas (Laprida y Ballent 2008).

Clasificación de los ostrácodos

Horne et al. (2002) divide a los ostrácodos actuales en dos subclases: Myodocopa y Podocopa. Los Myodocopa son exclusivamente marinos nectoplanctónicos y nectobentónicos con caparazones delgados, charnelas débiles y, en algunos grupos, un *rostrum* o pico anterior con una muesca; algunos myodocopas poseen ojos laterales compuestos. La morfología de los apéndices (cinco a siete pares de apéndices y una

fuerte furca) muestra una clara adaptación a la natación: antena con exopodito bien desarrollado con setas largas y plumosas y un endopodito muy reducido. Los restantes apéndices están reducidos o con diferentes adaptaciones, como el séptimo que se utiliza para la limpieza del caparazón. El octavo miembro es el aparato genital. La furca se sitúa posterior al ano. La subclase Podocopa incluye ostrácodos bentónicos marinos y no marinos con una gran variación morfológica, pero sin ojos compuestos ni *rostrum* anterior y una furca anterior al ano, muy reducida en algunos grupos. Las hembras tienen seis a ocho pares de apéndices. La antena tiene un endopodito bien desarrollado y el exopodito reducido. Está constituida por los órdenes actuales Platycopida, Podocopida y Palaeocopida. En el primer orden la mayoría son representantes marinos, los palaeocopidos, abundantes en el Paleozoico y considerados hasta hace poco extintos, poseen un único representante actual en ambientes marinos marginales (el enigmático género *Manawa*) mientras que los Podocopida están constituidos por ejemplares marinos, de ambientes transicionales y continentales. Karanovic (2012) resume la clasificación basada en trabajos previos con mayor resolución para los Podocopa con representantes en ambientes continentales (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los Ostracoda actuales según Karanovic (2012)

Clase Ostracoda
Subclase Myodocopa (M)
Orden Myodocopida
Orden Halocyprida
Subclase Podocopa (M/D)
Orden Platycopida (M)
Orden Podocopida (M/D)
Suborden Bairdiocopina (M)
Suborden Cytherocopina (M/D)
Superfamilia Cytheroidea (M/D)
Familias Bythocyprididae (M); Cobanocytheridae (M); Cushmanideidae (M), Cytherettidae (M); Cytheridae (M); Cytheromatidae (M); Cytheruridae (M), Entocytheridae (D); Eucytheridae (M); Hemicytheridae (M); Kliellidae (D); Krithidae (M); Leptocytheridae (M/D); Limnocytheridae (D); Loxoconchidae (M/D); Microcytheridae (M); Neocytheridae (M); Paracytherideidae (M); Paradoxostomatidae (M); Parvocytheridae (M); Pectocytheridae (M); Psammocytheridae (M); Schizocytheridae (M); Trachyleberididae (M); Xestoleberididae (M/D)
Superfamilia Terrestricytheroidea (M)
Familia Terrestricytheridae
Suborden Darwinulocopina (D)
Superfamilia Darwinuloidea
Familia Darwinulidae
Suborden Cypridocopina (M/D)
Superfamilia Cypridoidea (M/D)
Familias Candonidae (M/D); Cyprididae (D); Ilyocyprididae (D), Notodromadidae (D)
Superfamilia Macrocypridoidea (M)
Superfamilia Pontocypridoidea (M)
Suborden Sigilliocopina (M)
Orden Palaeocopida (M)
Superfamilia Puncioidea

Tipo de ambiente: M: Marino, D: Dulce.

Ecología

Los factores que determinan la distribución de los ostrácodos continentales son las características físicas del hábitat (profundidad, energía hidráulica), las características físico-químicas del agua (temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad, composición iónica), así como tipo de sustrato, la presencia y naturaleza de la vegetación acuática, la disponibilidad de alimento, y las presiones de depredación. Estos factores, que determinan la distribución a diferentes escalas, están influidos por la estabilidad temporal y físico-química de los ecosistemas, la que puede estimarse midiendo la diversidad α y β de los ensamblajes. La combinación de estos factores determina la presencia, riqueza y abundancia de las especies de ostrácodos, ya que la mayor parte de especies poseen óptimos bien definidos respecto a cada una de las dimensiones del nicho (Griffiths y Holmes 2000). Ciertas especies poseen preferencias ecológicas restringidas, siendo algunas muy sensibles a los cambios en la temperatura (Viehberg 2006), conductividad (Pérez et al. 2011), salinidad (Keyser 1977), composición iónica (Cohen et al. 1983) y cambios en la profundidad del agua (Pérez et al. 2010a), lo que habilita su uso como indicadores paleolimnológicos. En ecosistemas de latitudes altas, los ensamblajes responden a los cambios de la temperatura, mientras que en las zonas tropicales y de latitudes medias y medias altas, la conductividad, niveles tróficos y niveles del lago parecen ser los factores que mejor explican la distribución (Viehberg y Mesquita-Joanes 2012). En cualquier caso, el conocimiento autoecológico es clave para estimar el potencial de estos microcrustáceos en interpretaciones paleoambientales. En este sentido, mucho trabajo debe hacerse aún en los Neotrópicos para completar las bases de datos sobre requisitos ecológicos y la distribución de ostrácodos actuales.

A continuación se mencionan brevemente algunas variables ambientales con relevancia paleolimnológica que son determinantes en la distribución de los ostrácodos. Sin embargo, es importante tener en cuenta que es la combinación multidimensional de estos factores ambientales y las propiedades intrínsecas de los ostrácodos (movilidad, tasa de desarrollo, fecundidad y crecimiento, vulnerabilidad a depredadores, estrategias reproductivas, modos de alimentación) lo que determina la estructura de los ensamblajes así como la distribución de las especies (Pérez 2010).

Profundidad: el potencial de los ostrácodos como indicadores de niveles del lago ha sido discutido, ya que las especies no son sensibles a cambios en la profundidad *per se*, sino a la combinación de características asociadas a la profundidad como el tipo de sedimento, tamaño de grano, presencia y tipo de plantas acuáticas, disponibilidad de nutrientes, temperatura, oxígeno disuelto, entre otras (Pérez et al. 2010a). Sin embargo, conociendo el modo de vida y los rangos batimétricos de las distintas especies en los lagos profundos es posible realizar inferencias cualitativas sobre niveles del lago pasado.

pH: la diversidad de ostrácodos es más alta en aguas neutras a ligeramente alcalinas, disminuyendo considerablemente en aguas ácidas y muy alcalinas ($\text{pH} > 10$) (Delorme 1989). Sin embargo, existen especies que toleran aguas con pH de hasta 4 (Griffiths y Holmes 2000).

Temperatura: esta variable es determinante para el desarrollo, reproducción y finalización de los ciclos de vida. Generalmente, el desarrollo post-embriónico es más rápido a temperaturas cálidas (Cohen y Morin 1990; Mesquita-Joanes et al. 2012). A pesar que muchas especies pueden tolerar rangos muy amplios de temperatura, otras poseen preferencias y rangos estrechos de temperatura óptima, por lo que la distribución puede reflejar los gradientes térmicos latitudinales (Griffiths y Holmes 2000).

Composición iónica: la composición iónica de las sales disueltas es otro factor determinante en la distribución de especies. Existen cuerpos de agua con salinidades similares que presentan ensambles con diferente composición debido a que las especies parecieran presentar preferencias por las diferentes especies iónicas (Forester 1983, Laprida 2006).

Diversidad y biogeografía

Según la base de datos de Kempf (1966-2014, <http://www.kempf-world.net/index.html>) existen cerca de 65,000 taxones entre fósiles y vivientes, incluyendo taxones específicos y subespecíficos (Ikeya et al. 2005; Mesquita-Joanes et al. 2012). Unas 20,000 especies vivientes han sido descritas formalmente, de las cuales aproximadamente 2,000 pertenecientes a unos 200 géneros son especies no-marinas. El 75% de los ostrácodos no-marinos corresponden a las familias Cyprididae (~1,000 especies) y Candonidae (~550 especies). Las especies no-marinas ocupan todas las provincias zoogeográficas, siendo las Paleártica y Afrotropical las que presentan mayor número de especies. Algunas pocas especies son cosmopolitas. Algunos lagos antiguos (>125 ka) son “hotspots” de diversidad y endemismo. Otros hábitats que han dado lugar a cladogénesis son los ambientes hipógeos de aguas subterráneas, las lagunas temporarias y los lagos salinos de Australia (Martens et al. 2008). Según Martens et al. (2008) la provincia Neotropical presenta un total de 275 especies no-marinas, de las cuales 232 son endémicas. Sin embargo, muchos cuerpos de agua neotropicales aún permanecen sin estudiar, por lo que este número podría subestimar la verdadera biodiversidad. Por ejemplo, una revisión reciente (Cohuo et al. 2017) de la fauna de ostrácodos dulceacuícolas del área Caribe-neotropical demuestra que es la más diversificada del continente, con 117 especies. El mismo estudio determinó 5 áreas de endemismo: el sur de Florida (Estados Unidos); el sur de México-norte de Centroamérica; Cuba; las Antillas Menores, y el norte de Venezuela-Aruba-Curazao-Trinidad. Sin embargo, estudios similares son necesarios para el área que incluye casi toda Sudamérica.

3. Metodología

Las siguientes metodologías se describen exclusivamente para la toma de muestras y estudio de los ostrácodos actuales y fósiles en lagos. Se presentan los métodos que generalmente se han utilizado en estudios (paleo)-ecológicos en los Neotrópicos por nuestros grupos de investigación.

Muestras actuales

Colecta y equipo: La forma más común para coleccionar ostrácodos lacustres es el uso de una red de mano con una apertura de 100-125 μm . Para efectuar estudios poblacionales es aconsejable el uso de una menor apertura (75 μm) que incluya todos los estadios juveniles. Para una mejor maniobrabilidad, la red se adosa a una vara prolongable que facilita la colecta entre la vegetación acuática y permite alcanzar mayores profundidades desde la orilla. Para realizar análisis cuantitativos y en lagos profundos, lo más recomendable es el muestreo desde bote o plataforma por medio de una draga tipo Ekman o de un sacatestigo (*gravity o piston corer, multicorer*) de manera de recuperar la interfase agua-sedimento y los primeros centímetros por debajo de ésta lo menos perturbado posible.

Fijación: Para la fijación de las muestras, lo más recomendable es el uso de etanol 75% que permite una adecuada preservación de los ostrácodos y la realización de estudios moleculares. Para facilitar las disecciones de los organismos y evitar que los individuos cierren sus caparazones antes de la muerte, se recomienda la narcotización *in situ* agregando paulatinamente el etanol a las muestras antes de incorporar etanol suficiente como para lograr la dilución adecuada para la fijación. Generalmente, si las muestras son deficientemente fijadas, la materia orgánica particulada, los restos de vegetación y otros animales presentes en las muestras (nematodos, poliquetos) pueden descomponerse y acidificar el medio, debilitando y aún disolviendo las valvas y caparazones. Es por esto que adicionalmente se recomienda mantener las muestras refrigeradas (aprox. 4°C) y controlar periódicamente el pH. Si el estudio exige una excelente preservación de las partes duras y blandas, se recomienda extraer los ostrácodos inmediatamente (si es posible en el campo) utilizando un microscopio estereoscópico de campo y almacenar los organismos en tubos Eppendorf etiquetados con etanol al 95%, y posteriormente mantenerlos en refrigeración. El problema principal con el uso de formol, utilizado frecuentemente para la fijación de zooplancton, es que su bajo pH favorece la disolución de las valvas luego de cierto tiempo de preservación, aún en soluciones buffereadas.

Caracterización y descripción del hábitat: Para realizar inferencias de cualquier tipo es indispensable una adecuada descripción del hábitat, incluyendo las variables morfométricas del cuerpo de agua, la vegetación circundante y las variables limnológicas como temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad, salinidad,

profundidad, transparencia. Algunas variables suelen ser medidas con sondas multiparamétricas, ya sea con electrodos sumergibles y cables de largo adecuado o mediante el uso de botellas muestreadoras de agua tipo Ruttner para luego realizar las mediciones en la superficie con sondas de cables cortos, que generalmente son de menor costo y más portátiles. Dada la heterogeneidad de los ambientes, las mediciones de las variables deben ser tomadas del sitio exacto donde se toma la muestra para el análisis de la fauna. Paralelamente, se colectan muestras de agua para análisis de la composición química (aniones y cationes principales, elementos traza) y para análisis isotópicos (oxígeno, carbono y deuterio).

Procesamiento: Antes de proceder a la extracción y concentración de los ostrácodos para identificación y conteos, es necesario calcular el volumen o peso de las muestras para evaluar la densidad de cada taxón. En el caso de muestras de sedimento, y dependiendo de la distribución granulométrica y cantidad y tipo de materia orgánica, se procede a tamizar la muestra para eliminar el material fino. Generalmente para muestras con muchos restos vegetales o guijas se utiliza una torre de tamices con diferentes aperturas de malla de mayor a menor tamaño de apertura (500, 250, 125, 63 μm). Si las muestras son limo-arcillosas, se puede utilizar únicamente el tamiz con menor apertura (generalmente entre 100-63 μm). Cuando las muestras son arenosas, pueden secarse en el horno termostático a 40-50°C para eliminar la humedad. Sin embargo, este procedimiento puede dañar las partes blandas, por lo que es necesario extraer primero los organismos completos y secar el resto de muestra, que posee valvas y caparazones vacíos. En el caso de las muestras limo-arcillosas o con abundantes detritos vegetales, se recomienda extracción en húmedo en agua destilada, ya que el secado provoca que los organismos se aglutinen dificultando su separación, con una alta probabilidad de quebrar las valvas. Una vez tamizada la muestra se coloca un volumen o peso conocido en una caja Petri o bandeja micropaleontológica cuadrículada con agua destilada y se procede a la extracción de todos los ostrácodos (adultos y juveniles que presenten partes blandas preservadas) y sus evidencias (caparazones vacíos y valvas).

Identificación y conteos: Extraídos los ostrácodos, los individuos se clasifican y los taxones identificados se colocan en diferentes celdillas micropaleontológicas para facilitar su recuento. Para una identificación inequívoca, las determinaciones se realizan sobre individuos adultos (hembras y machos) bien preservados con partes blandas completas. Para hacer la determinación se realiza disección bajo un microscopio estereoscópico, utilizando pinzas y agujas entomológicas, desarticulando apéndice por apéndice sobre un portaobjeto utilizando un medio de montaje, como Hydromatrix® o glicerina. Si se selecciona medio de montaje, la disección debe de realizarse rápidamente. Las disecciones en glicerina pueden efectuarse más lentamente, pero posteriormente, los apéndices deben ser montados con Hydromatrix®. Suele ser más sencillo seleccionar ejemplares con el caparazón abierto, lo cual facilita la separación del cuerpo de las valvas y evita roturas. La observación de las características

diagnósticas de las partes blandas se realiza utilizando un microscopio óptico. Las identificaciones se facilitan mediante la toma de fotografías con microscopio electrónico de barrido (MEB) tanto de las partes duras como blandas. Las determinaciones se efectúan considerando el organismo como un todo, es decir, observando simultáneamente las partes duras y las partes blandas. Esto facilita la identificación de caparazones y valvas carentes de partes blandas. Cuando las especies están identificadas, se efectúan los conteos pertinentes.

Muestras fósiles

Los estudios paleolimnológicos se realizan a partir del estudio de núcleos o testigos sedimentarios y ocasionalmente a partir de secciones geológicas expuestas. Existe una gran diversidad de equipos para la extracción de testigos. Estos equipos suelen manipularse desde plataformas o embarcaciones suficientemente estables. Dependiendo de los objetivos del estudio, se puede recuperar una secuencia sedimentaria corta (desde unas pocas decenas de centímetros que generalmente abarcan algunos cientos de años) mediante muestreadores de gravedad o pistón; o secuencias más largas (de hasta varios cientos de metros que abarcan el Holoceno y Pleistoceno). En este último caso, se requiere el uso de muestreadores específicos (*vibracorer*, *percussion corer*) y plataformas robustas. Es el caso de la plataforma GLAD (Global Lake Drilling) que necesita el apoyo logístico del International Continental Drilling Program (ICDP). Antes de extraer los testigos es importante un estudio de factibilidad que permita reconocer la presencia y abundancia de ostrácodos en el lago. Una vez disponible, la secuencia debe ser sedimentológicamente descrita (tamaño de grano, estructuras sedimentarias, color). Una pequeña cantidad de muestra (1-5 g) se toma de niveles seleccionados del núcleo o testigo. Existen distintas estrategias para definir la ubicación de dichas muestras, dependiendo del objetivo de la investigación, la longitud total y las variaciones faciales del núcleo. Generalmente para núcleos cortos (<1 m), se toman muestras cada 1-2 cm; para los núcleos más largos (>10 m), una equidistancia decimétrica es razonable. Las muestras se toman utilizando espátulas o muestreadores *ad hoc* con volumen conocido (e.g. 1 cm³). Para evitar la ruptura de los ostrácodos, las muestras se almacenan en frascos plásticos cilíndricos de boca ancha y tapa de rosca adecuadamente etiquetados. De cada muestra se toman 2 alícuotas de 1 gramo, lo que puede variar según la abundancia de ostrácodos. Una alícuota se utiliza para el análisis cuantitativo de la fauna fósil y la otra para determinar el peso seco de la muestra, para así poder reportar los resultados como valvas/gramo seco. La forma en la cual las valvas y caparazones son extraídas depende del tipo de sedimento. Generalmente, los sedimentos lacustres tropicales son arcillosos por lo cual no se recomienda dejar secar las muestras, si no colocar la alícuota en una caja Petri con un poco de agua destilada para ir extrayendo las muestras en un medio acuoso, para evitar que las valvas queden pegadas al sedimento seco. En otros casos, se somete la muestra a H₂O₂ 10% para favorecer la desagregación y lavado del sedimento sobre tamiz de malla 75-100µm, y la extracción se efectúa sobre sedimento seco luego de

secado del residuo en estufa termostática a 40-50°C o a la intemperie. En sedimentos arenosos con escasa materia orgánica, el lavado del sedimento sobre tamiz puede realizarse sin tratamiento previo. Las valvas se van colocando en diferentes celdillas micropaleontológicas correspondientes a cada taxón. Según el objetivo de estudio, pueden extraerse sólo adultos o las poblaciones completas, adultos y juveniles. La identificación se basa únicamente en las partes duras de ejemplares adultos, para lo cual se utilizan microscopio estereoscópico, microscopio de luz transmitida y microscopio electrónico de barrido. Para generar reconstrucciones paleoambientales cuantitativas confiables y robustas, un mínimo de 300 valvas por muestras es suficiente para considerar que los ensambles fósiles son representativos de las paleobiocenosis.

Existen diversas aproximaciones para transformar la señal paleontológica que se encuentra codificada en la estructura de los ensambles fósiles en una variable ambiental, cualitativa o cuantitativa. Algunas de ellas utilizan la ausencia/presencia de especies indicadoras, mientras que otras consideran la estructura (composición taxonómica, abundancias relativas) de los ensambles (método de análogos modernos) e incluso análisis multivariados (funciones de transferencia o calibración multivariante) propios de la paleoecología del Cuaternario, que combinan los datos actuales. Todos estos enfoques implican una sustitución de la dimensión espacio-por-tiempo y requieren información sobre las preferencias y las tolerancias modernas de los taxones encontrados como fósiles.

4. El uso de los ostrácodos como paleobioindicadores

A continuación se presentan los estudios actuales y paleoambientales basados en ensambles de ostrácodos más importantes para la región neotropical, así como ejemplos de nuestras investigaciones que ilustran su alto potencial como paleobioindicadores.

México y Centroamérica

El centro de México está localizado en la zona de transición Neártica-Neotropical y ha sido considerada como una región con alto endemismo, especialmente el este-centro de México (Cohuo et al. 2014; Pérez et al. 2015). Los estudios pioneros de carácter taxonómico fueron realizados a finales del siglo XIX. Posteriormente, a inicios del siglo XX se iniciaron los primeros estudios para las tierras bajas de la Península de Yucatán, México y norte del Guatemala (Pérez 2010). Recientemente se han reportado alta diversidad en la zona de la Selva Lacandona, Chiapas, México. Hasta la fecha toda la región kárstica es una de las regiones neotropicales con mayor diversidad de ostrácodos, donde las aguas de los cuerpos de agua están dominadas generalmente por calcio y carbonatos. Gracias a la excelente preservación de las valvas en sedimentos lacustres, junto con las diatomeas, son generalmente el grupo de microfósiles más dominantes en las secuencias sedimentarias extraídas en estos lagos.

El primer estudio paleoambiental que se basa en los ensamblajes fósiles de ostrácodos y otros bioindicadores fue realizado en núcleos extraídos de la laguna Petenxil, norte de Guatemala (Goulden 1966). El estudio demuestra cómo los ensamblajes acuáticos han respondido al efecto de la agricultura en el lago desde los ~4,000 años cal AP. Sin embargo, dicho estudio se basa principalmente en el registro de cladóceros y polen, y el potencial de los ostrácodos como indicadores paleoambientales no es demostrado en su totalidad.

Las primeras reconstrucciones en ecosistemas acuáticos salobres de Belice, en las cuales se utilizan los ostrácodos como herramientas de reconstrucción de salinidad son las publicadas por Bradbury et al. (1990) y Alcalá-Herrera et al. (1994). Como consecuencia del interés en estudios paleoclimáticos y su posible influencia en el colapso de la civilización maya clásica, se inició el análisis de isótopos estables de ostrácodos con el objetivo de reconstruir períodos de severas sequías durante el Holoceno (Curtis et al. 1996 1998; Hodell et al. 1995; Leyden et al. 1996; Whitmore et al. 1996). Los estudios en el norte de Guatemala de Leyden et al. (1993; 1994) en el lago Quexil, y de Mueller et al. (2010), Escobar et al. (2012), y Pérez et al. (2011; 2013) en el lago Petén Itzá, respectivamente, presentan resultados de secuencias sedimentarias pleistocénicas con abundantes ostrácodos.

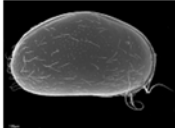
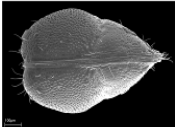
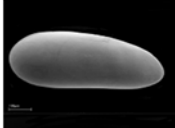
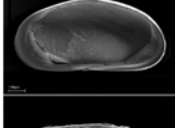
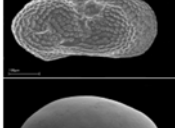
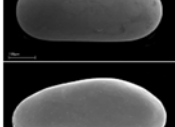
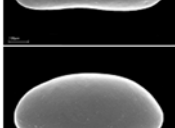
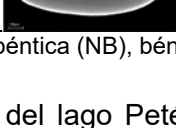
Registro paleoambiental Lago Petén Itzá, norte de Guatemala (17°N, 89°W)

El registro paleoclimático y paleoambiental más extenso (~300,000 años AP) que se conoce hasta la fecha para las tierras bajas del norte de los Neotrópicos es el lago Petén Itzá (Kutterolf comunicación personal), el cual fue perforado y estudiado gracias al apoyo del ICDP, y la colaboración de un equipo internacional y multidisciplinario de expertos en la paleoclimatología, paleolimnología y paleoecología. Estudios basados en los ensamblajes fósiles de ostrácodos anticiparon la necesidad de estudios ecológicos. Con esta finalidad, un gran número de colectas fueron realizadas siguiendo transectos, tanto en el lago Petén Itzá como en 63 ecosistemas acuáticos de la Península de Yucatán y sus alrededores, donde se reportaron 29 especies de ostrácodos. Basándose en estos muestreos, Pérez et al. (2010b; 2013) presentan un resumen de las preferencias ecológicas de especies seleccionadas identificadas en los núcleos largos del Lago Petén Itzá para facilitar las inferencias paleoambientales y paleoecológicas cuantitativas (Tabla 2).

Los cambios en las abundancias de ostrácodos fósiles en el núcleo largo PI-6 revelan cambios abruptos de los niveles del lago, conductividad y temperatura del agua durante finales del Pleistoceno e inicios del Holoceno (Fig. 2). El Último Máximo Glacial (UMG) se caracterizó por la presencia de especies típicas de ambientes fríos y húmedos, mientras que la fauna que caracteriza el evento Heinrich 1 sugiere temperaturas frías pero un ambiente mucho más seco, con bajos niveles del lago. El interstadial Bolling Allerod presenta niveles altos del lago y un clima más cálido

sugerido por la dominancia de la especie *Physocypria globula* y la disminución de *Limnocythere opesta*. La concentración de valvas disminuye durante el Younger Dryas cuando las temperaturas fueron nuevamente frías y los niveles bajos, finalmente la transición Pleistoceno/Holoceno temprano se torna nuevamente húmeda y cálida.

Tabla 2. Preferencias ecológicas y relevancia paleolimnológica de especies de ostrácodos seleccionadas del Lago Petén Itzá, Guatemala (modificado de Pérez et al. 2013).

Especies	MEB	Estilo de vida	Rango de profundidad (m) ¹	Preferencias ecológicas e información con relevancia paleolimnológica ¹
<i>Cypridopsis okeechobei</i>		NB	≤40	Preferencia por zonas litorales con abundante vegetación acuática.
<i>Cytheridella ilosvayi</i>		B	≤40	Aguas cálidas y someras (>20°C), tolera altas conductividades (<5960 μS cm ⁻¹) y conc. de sulfatos (2300 mg L ⁻¹)
<i>Darwinula stevensoni</i>		B	≤15	Aguas someras, y tranquilas, tolera salinidades altas (13.5‰)
<i>Heterocypris punctata</i>		NB	≤1	Zonas litorales con abundantes macrofitas, aguas tranquilas y salinidades hasta 10‰.
<i>Limnocythere opesta</i>		B	<40	Habita hasta el termoclina, habita en zonas litorales con abundantes macrofitas, tolera altas conductividades y sulfatos.
<i>Physocypria globula</i>		NB	<50-60	Altamente tolerante, aguas profundas, tolera bajas concentraciones de oxígeno disuelto (~3 mg L ⁻¹).
<i>Pseudocandona</i> sp.		B	<40	Aguas someras (<15 m), sedimentos con alto contenido en material orgánica
<i>Strandesia intrepida</i>		NB	<15	Aguas cálidas, someras y bien oxigenadas.

Abreviaciones: Nectobéntica (NB), béntica (B), ¹ Información extraída de Pérez et al. (2010b, c).

El estudio del lago Petén Itzá no sólo representa el registro más antiguo y de mayor resolución en la región, sino que es un modelo a seguir, ya que utiliza un método integrativo taxonómico, ecológico, limnológico y paleoambiental. Actualmente, se han detectado en México y Centroamérica otros lagos que potencialmente presentan información paleoclimática y paleoambiental probablemente más antigua que los 300,000 años, como el lago de Chalco en el altiplano del centro de México y el lago de Nicaragua, en las tierras bajas de Nicaragua, Centroamérica.

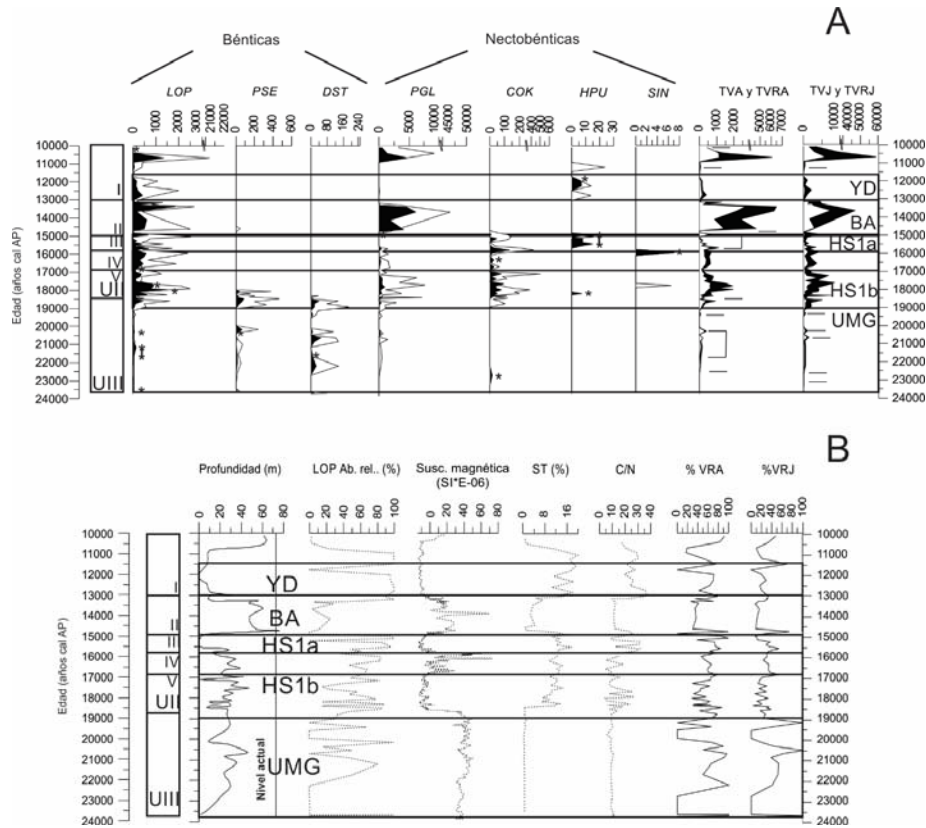


Figura 2. Registro paleoambiental PI-6 del lago Petén Itzá, norte de Guatemala (modificado de Pérez et al. 2013). A. Conteos de ostrácodos fósiles (LOP: *L. opesta*, PSE: *Pseudocandona* sp., DST: *D. stvensoni*, PGL: *P. globula*, COK: *C. okeechobei*, HPU: *H. punctata*, SIN: *S. intrepida*, TVA: total valvas adultas, TVAR: total valvas rotas adultas, TVJ: total valvas juveniles, TVRJ: total valvas rotas juveniles); B. Reconstrucción paleoambiental basada en ostrácodos, indicadores geoquímicos y aplicación de funciones de transferencia desarrolladas para la Península de Yucatán y sus alrededores utilizadas para la inferencia del cambio en los niveles del lago (UMG: Último Máximo Glacial, HS1: Heinrich 1, BA: Bolling Allerod, YD: Younger Dryas. LOP: abundancia relativa *Limnocythere opesta*; ST: azufre total, C/N: proporción carbono/nitrógeno, VRA: valvas rotas adultos, VRJ: valvas rotas juveniles).

El Caribe

La taxonomía y distribución de la fauna actual del Caribe han sido intensamente estudiadas (cf. Lalana et al. 2005), lo que facilita las interpretaciones paleoambientales. El registro paleoambiental más largo (~125,000 años AP) es el del lago costero Wallywash Great Pond, Jamaica (18°N, 78°W) (Holmes et al. 1995a). Las reconstrucciones fueron acompañadas con estudios actuales para realizar calibraciones (Holmes et al. 1995b, 2007) y asegurar una consistente taxonomía (Holmes 1997). Los estudios se basan en los cambios de abundancias de las especies así como análisis de elementos traza (Sr/Ca, Mg/Ca) e isótopos estables ($\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$), lo que permitió

inferencias sobre los cambios en la salinidad, paleohidrología y paleoproductividad. Otro registro relativamente bien estudiado es el del lago Miragoane en Haití (~10,500 años AP, 18°N, 73°W) (Hodell et al. 1991). Valvas de *Candona* sp. fueron utilizadas para el análisis de isótopos de oxígeno, los que sugieren para el área de estudio condiciones secas y bajos niveles del lago para la fase terminal del Younger Dryas y una subsecuente subida en los niveles lacustres para finales de la deglaciación, condiciones que persistieron hasta el Holoceno medio. Los isótopos muestran condiciones nuevamente secas para el Holoceno tardío (Curtis et al. 2001)

América del Sur intertropical

Los estudios de ostrácodos en Sudamérica comenzaron hacia fines del siglo 19 (cf. Martens y Behen 1994). En estos trabajos se describen algunas nuevas especies, aunque muchas veces la calidad de las descripciones y figuras no permiten su aplicación unívoca. Los estudios de secuencias límnicas cuaternarias comenzaron tardíamente con los estudios realizados en la cuenca alta del Río Amazonas, Brasil (Purper 1979) y en el oeste boliviano (Purper y Pinto 1980), pero los estudios que aplican técnicas paleolimnológicas modernas comienzan recién en la década de 1990 con los proyectos internacionales Lagos-Comahue y Pato/Palatra, centrados en el estudio de los lagos de la Patagonia Norte (Whatley y Cusminsky 1995; 1999; 2000). Las principales áreas de investigación se concentran en la región del Altiplano-Puna, la llanura pampeana y la Patagonia.

Altiplano-Puna (15°-26°S)

Se efectuaron estudios en la cuenca del lago Titicaca (3,800 msnm), Altiplano de Perú; en el Altiplano chileno; y en la zona catamarqueña de la Puna argentina.

Los ensambles del Altiplano-Puna (Mourguiart et al. 1986) se caracterizan por una gran diversidad de limnocytheridos, algunas especies cosmopolitas y una gran cantidad de taxones dejados en nomenclatura abierta (cf. Mourguiart 2000). Mourguiart y Carbonel (1994) y Mourguiart et al. (1998) desarrollaron una función de transferencia que permitió reconstruir los cambios climáticos ocurridos a partir del Holoceno inferior hasta la actualidad en la cuenca del Titicaca. Esas investigaciones constataron variaciones en el nivel del lago que estarían asociados con períodos húmedos y secos a lo largo de la secuencia, llegando en algunos casos a un incremento de hasta 25 m con respecto al nivel actual. Schwalb et al. (1999) analizan la composición isotópica de los ostrácodos y el carbonato autigénico de testigos de las Laguna Seca, Miscanti y Negro Francisco, altiplano chileno (>4,000 msnm). Las variaciones isotópicas permiten reconocer períodos de mayor/menor disponibilidad hídrica desde el Holoceno medio, y son consistentes con las tendencias regionales en las que se observan condiciones secas durante el Holoceno medio hacia condiciones variables pero algo más húmedas hacia el Holoceno Tardío. Los estudios sobre ostrácodos actuales del Altiplano argentino comenzaron sólo recientemente (Laprida et al. 2006, Di Micco 2012). Se reconocieron

numerosas especies de ambientes lóticos y lénticos. Los ensambles presentan baja abundancia y diversidad. Los datos recuperados se utilizaron para reconstruir la historia holocena del Salar Laguna Colorada (26° 01'S – 67° 26'O, 3,420 msnm). Este sitio habría actuado en el Holoceno temprano como un mosaico de microcubetas generadas por deflación eólica durante los momentos más secos. Durante el Holoceno medio, prevaleció una sedimentación aluvial y de barreales secos correspondiente a un momento particularmente árido. Un cambio de régimen y una mayor humedad efectiva alrededor de 3,400 años AP marca el establecimiento de un lago salino semipermanente (Di Micco, 2012). Se reconocen pulsos de mayor humedad a los 1,800 años AP y 1,300 años AP, que coinciden sólo parcialmente con los pulsos de humedad propuestos para otros sectores del Altiplano argentino y chileno. Con posterioridad a los ~1,000 años AP, estos sistemas se habrían desactivado, prevaleciendo las condiciones del barreal actual.

Llanura pampeana (30°-39°S)

La descripción de las especies de ostrácodos actuales en los lagos someros de la región pampeana comenzó con Ramírez (1967), pero el primer estudio que relaciona la distribución de las especies actuales con las condiciones ambientales para ser aplicados a estudios paleolimnológicos es el de Laprida (2006). El estudio reveló que las distintas especies pueden ser agrupadas de acuerdo a su preferencia por el tipo de agua y la estabilidad del ambiente (*Cyprideis hartmanni*, *Heterocypris similis*, *Limnocythere cusminskyae*), aun cuando algunas de ellas son cosmopolitas (*Cypridopsis vidua*, *Heterocypris incongruens*, *Darwinula stevensoni*). El registro de la Laguna La Brava (37°52'S - 57°59'O) abarca los últimos 4,800 años (Laprida et al. 2014). Entre 4,700-4,500 años AP predominaron los estados turbios asociados a niveles del lago alto; con posterioridad y hasta los 2,000 años AP, niveles del lago menores dieron lugar al establecimiento de estados claros. Se reconocieron fuertes sequías a los 4,000-4,200 años AP y entre 3,400-2,600 años AP que forzaron cambios a estados turbios inorgánicos. El incremento en el nivel del lago y una mayor productividad asociadas a un aumento en las precipitaciones provocaron el cambio nuevamente a un estado turbio a partir de los 2,000 años AP, puntuado por un descenso del nivel del lago que promovió estados claros a los ~1,500 años AP. El establecimiento de un lago de aguas turbias de origen inorgánico marca las condiciones frías y secas asociadas a la Pequeña Edad de Hielo alrededor de 1,700 AD.

La Pequeña Edad de Hielo y el inicio del impacto antrópico en la región pampeana se identifican claramente en los testigos cortos de las lagunas de Chascomús (35° 35' S - 58° 02' O) y del Monte o Guaminí (37°00'S, 62°30'O), muestreadas dentro del marco del proyecto CAHCILA, representando el gradiente pluviométrico NO-SE que caracteriza a la región pampeana (Laprida et al. 2009). El registro sedimentario y los ensambles de ostrácodos permitieron establecer que alrededor del 1,500 AD las lagunas eran cuerpos de aguas fuertemente alcalinas y

disóxicas propias de un escenario de aguas altas, en respuesta a un clima predominantemente húmedo. A partir del año 1,700 AD y hasta 1,850 AD, el mayor aporte de material detrítico y el incremento del tamaño de grano indicarían la retracción de las lagunas vinculado a la Pequeña Edad de Hielo. Con posterioridad a 1,850 AD, las asociaciones de ostrácodos y las evidencias sedimentológicas indican nuevamente un escenario de aguas altas y el descenso de la conductividad, existiendo frecuentes intercambios con biotopos temporarios vecinos como consecuencia de anegamientos e inundaciones reiterados. La laguna La Barrancosa (37°19'S - 60°06'O) permitió efectuar un estudio de alta resolución de la evolución de la laguna a partir de 1,900 AD en base a ostrácodos y quironómidos (Plastani et al. 2013; Montes de Oca et al. 2014). Entre principios de siglo y 1,940 AD se infieren ambientes lóticos temporarios con marcada escorrentía lo que revela un balance negativo de precipitación /evapotranspiración asociado a *Dust Bowl* pampeano. Con posterioridad a 1,940 AD, el aumento en la abundancia absoluta de los *bioproxies* y el comportamiento de los proxies geoquímicos permiten postular la existencia de un ambiente léntico permanente. Entre 1,970 AD y 1,990 AD, los indicadores biológicos marcan un cambio hacia un ambiente altamente productivo. Este cambio puede ser atribuido al salto climático 1,976/1,977 para la región pampeana, lo que favoreció la eutrofización de las aguas. Esta tendencia se incrementa a partir de 1,990AD, con el aumento de la sojización en el área. La presencia de un ensamble particular de quironómidos, el reemplazo de *Limnocythere solum* por *Limnocythere cusminskyae* y el aumento de los derivados de la clorofila, permite postular el establecimiento de un lago eutrófico-hipereutrófico oligohalino de carácter permanente asociado al impacto antrópico (Montes de Oca et al. 2014; Plastani et al. 2014) a partir de 1,990.

Patagonia Central y Norte (40-49°S)

Se analizaron secuencias de ambientes lacustres actuales de Patagonia Norte y cuencas endorreicas en una transecta O-E desde el Monte Tronador hasta el área de Cari-laufquen (42°S) y Lago Cardiel (49°S) (ver citas en Cusminsky et al. 2011). En los estudios de ostrácodos en ambientes actuales se analizó la asociación de ostrácodos presentes junto con las variables físico-químicas, la composición isotópica de las aguas hospedadoras y de las valvas. En estos trabajos, especialmente a lo largo de una transecta O-E a la altura del paralelo 40°S y en el sector cercano a los 49°S se verificó una marcada diferencia en las asociaciones de ostrácodos en donde se constató a la conductividad como factor importante en la distribución de los mismos. De esta forma se reconocieron asociaciones presentes en ambientes de baja conductividad como *Penthesinelula incae*, *Tonacypris lutaria*, *Cypris pubera*; conductividad intermedia como *Heterocypris incongruens*, *Ilyocypris ramirezzi*, *Eucypris fontana* y *Kapcypridopsis megapodus*, entre otras de alta conductividad como *Limnocythere rionegroensis* (Schwalb et al. 2002; Cusminsky et al. 2005; Cusminsky et al. 2011; Coviaga et al. 2013; 2015). Por otro lado, estudios recientes de morfometría geométrica en ostrácodos lacustres, señalan que la forma y tamaño de *Eucypris fontana* en distintos ambientes

podría estar relacionada con la conductividad, iones presentes y temperatura. (Ramos et al. 2015).

Estudios de secuencias cuaternarias en Patagonia norte

Sector Lago Cardiel (49°LS) Testigo CAR99-7P cuya edad abarca desde el Pleistoceno superior (15.664 años AP) hasta el Holoceno medio (3109 años AP) (Fig. 3). Los resultados obtenidos a partir del estudio de ostrácodos están bien desarrollado en Cusminsky et al. (2011). A modo de síntesis se puede indicar que la presencia y alternancia de *L. rionegroensis* var 1 y *L. rionegroensis* var 2 junto con *Eucypris virgata*, *E. fontana* y *L. patagónica* señalan un cambio en el balance hidrológico del lago Cardiel en donde se observa una variación desde condiciones secas durante el Pleistoceno superior a condiciones más húmedas durante el Holoceno inferior y medio. Hacia el Holoceno superior, se observó una disminución en el nivel del lago sugiriendo una menor humedad disponible en el área. Esta interpretación es consistente con los datos sísmicos, limnológicos y sedimentológicos del lago obtenidos por otros estudios (Gilli et al. 2005). Según Gilli et al. (2005) y Ariztegui et al. (2008) estos cambios ocurridos a estas latitudes podrían deberse a un aumento de los vientos del oeste.

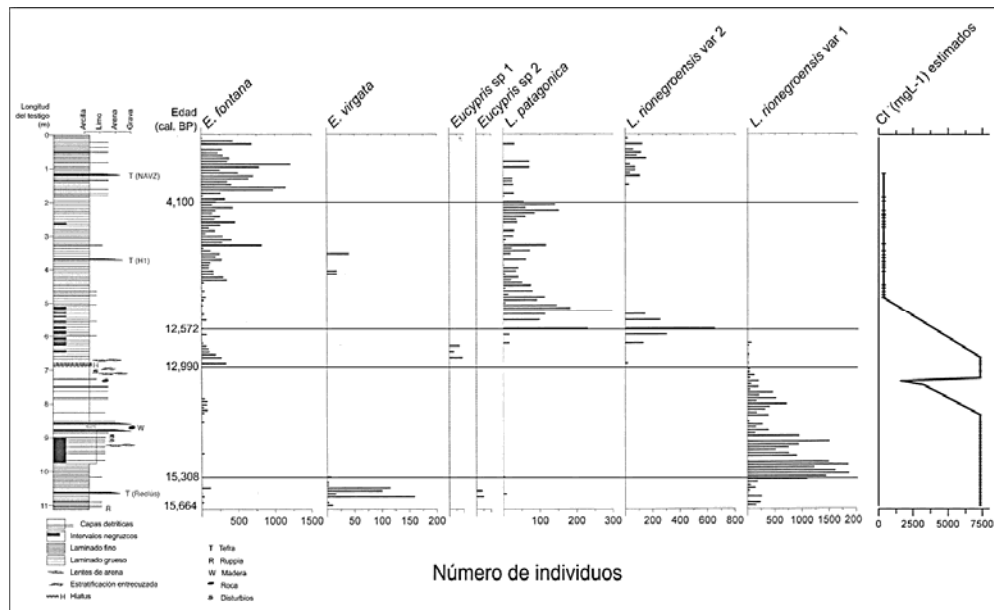


Figura 3. Testigo CAR 99 7P Lago Cardiel, Patagonia Norte. Abundancia de ostrácodos a lo largo del testigo asociado con la litología, edad y distribución de la concentración de cloruros (modificado de Cusminsky et al. 2011).

Patagonia austral (49°-52°S)

Los estudios en este sector comenzaron dentro del Proyecto Interdisciplinario Patagonia Austral (PIPA). Se analizaron cuerpos de agua en un gradiente O-E entre los 49°-52°S

(Ramón Mercau y Laprida 2010; Ramón Mercau et al. 2011). Los ensambles son moderadamente diversos y la mayor diversidad se encuentra en los ambientes de estepa con una moderada concentración de solutos. Las especies mostraron claras preferencias en relación al campo hidroquímico de las aguas huéspedes, permitiendo el desarrollo de una función de transferencia para la reconstrucción cuantitativa de la salinidad (Ramón Mercau, 2015). Se analizaron registros sedimentarios de cuerpos de agua en el ecotono y la estepa con el objetivo de reconstruir parámetros ambientales climáticamente controlados durante el Holoceno.

La Laguna San Ignacio (50° 39'S - 70° 40'O, 324 msnm) es una pequeña laguna temporaria somera (<2 m) de estepa. La ocurrencia de *L. rionegroensis* como única especie en un testigo corto permite inferir un cuerpo de aguas mesohalinas y elevado contenido de NaCl al menos durante los últimos cientos de años, con eventos frecuentes de disecación durante el siglo 20.

La Laguna Cháltel (49°57'S - 71°06'O, 788 msnm) es un *crater lake* oligohalino y permanente, localizado en una meseta volcánica. Los resultados revelan marcadas fluctuaciones en el nivel del lago desde el Holoceno medio (Ramón Mercau et al. 2010; Ohlendorf et al. 2015). Durante el Holoceno Medio se habría establecido un ambiente efímero y salino del tipo *playa lake*. La reconstrucción de la salinidad efectuada en base a la función de transferencia confirma que entre los 4,600- 2,700 años AP el balance hídrico habría sido desfavorable, con un marcado evento de disecación en torno a los 4,000 años AP. A partir de los 2,700 años AP, el balance hídrico habría sido más positivo, con disminución en los valores de salinidad reconstruidos y la transición a una composición de solutos dominada por bicarbonato de calcio y/o magnesio. Hacia 1,500 años AP, Cháltel se habría vuelto un cuerpo de aguas permanentes de salinidades oligohalinas, permaneciendo en dicha condición hasta el presente.

La laguna Huergo (51° 44'S - 72° 04'O, 157 msnm) se encuentra en el ecotono entre el bosque andino-patagónico y la estepa. El registro sedimentario abarca los últimos 6,500 años. La estructura de los ensambles sugiere salinidades oligohalino-limnéticas. La salinidad reconstruida indicaría oscilaciones en el nivel de la laguna asociadas a cambios menores en el balance hídrico en escalas multiseculares asociada a precipitaciones locales que habrían compensado a las pérdidas evaporativas del Holoceno Medio, por lo que la laguna no sufrió períodos de desecación o aumentos bruscos de salinidad al menos en los últimos 5,400 años. La base del testigo se habría depositado en una zona litoral, pero la secuencia granodecreciente indica un aumento en el nivel de la laguna hacia los 3,400 años AP. Los valores menores de salinidad y mayor nivel de la laguna habrían ocurrido alrededor de los 3,000 años AP. Con posterioridad habría ocurrido un nuevo descenso del nivel del lago, con el desarrollo de facies marginales. Alrededor de los 300 años AP, una brusca disminución de la granulometría y la composición de los ensambles de ostrácodos indican una dilución de las aguas por mayor aporte y un aumento en el nivel del lago (Mercau y Laprida 2010).

5. Perspectivas a futuro

Hemos presentado las bases teórico-metodológicas para el estudio de los ostrácodos y el estado del conocimiento y aplicaciones de este importante grupo de microcrustáceos en la región Neotropical. Si bien el rango geográfico en el cual se han efectuado estudios abarca toda la extensión latitudinal de la región, desde el centro de México hasta las áridas tierras de la estepa patagónica, hay extensas regiones para las cuales aún no existe información, por lo que las bases de datos sobre la abundancia, distribución y los requisitos ecológicos de ostrácodos neotropicales son aún insuficientes. Para un mejor entendimiento de los patrones de distribución y tolerancias ecológicas de las especies urgen estudios casi en todo Centroamérica (Honduras, El Salvador-Panamá) y en algunos países del norte de Sudamérica. Asimismo, los estudios autoecológicos y los que brindan información acerca de los modos de vida, las tasas de reproducción, las estructuras poblacionales, las relaciones inter- e intra-específicas, son prácticamente inexistentes para la gran mayoría de las especies de ostrácodos neotropicales, y en todo el mundo. Esto es particularmente cierto para los lagos y humedales remotos, para los cuales la logística de muestreo exige una gran inversión que sólo es posible afrontar mediante la cooperación científica internacional con la participación de los países de nuestra América. Adicionalmente, para potenciar el uso de los ostrácodos como indicadores paleolimnológicos es preciso ajustar la taxonomía mediante la redefinición de algunas diagnósis específicas considerando conjuntamente las partes duras (valvas y caparazones) y las partes blandas (apéndices), lo que permitirá llegar a sistemas clasificatorios que reflejen la realidad de los taxones naturales. Para esto es necesaria una combinación de estudios taxonómicos, morfológicos, ecológicos y moleculares. Sólo así las relaciones propuestas entre la distribución de las especies reconocidas y las variables explicatorias tendrán valor predictivo. Para evitar reconstrucciones paleoambientales erróneas son necesarios estudios a detalle de procesos tafonómicos, los cuáles aún son bastante escasos. Es importante considerar la posibilidad del desarrollo de base de datos semejante a la NANODE, que contiene información sobre los ostrácodos de Norte América; que contengan toda la información disponible para los distintos taxones, especialmente en este momento con relativamente poca información, la cual sin duda se incrementará en un futuro cercano. Adicionalmente una base de datos con información genética sería ideal para la región. Por último, es preciso aumentar los esfuerzos tendientes a extraer la señal ambiental de los registros biogeoquímicos que se encuentran codificados en las valvas, unas de las pocas fuentes de carbonato biogénico en los ambientes continentales. Los estudios isotópicos (en particular $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$) y elementales (relaciones Mg/Ca, Sr/Ca) y de elementos traza son aún poco frecuentes, y pueden ser una fuente de datos independiente que permita una mejor interpretación de los ambientes pasados.

6. Agradecimientos

A todas los participantes de las campañas de muestreos de los diferentes proyectos de investigación presentados en este capítulo, así como al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IA101515, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG 671), Technische Universität Braunschweig, Alemania, CONICET (Proyectos PIP 0819 y 00021), a la Agencia de Promoción Científica y Técnica (PICT 1271), a las Universidades de Buenos Aires (UBACyT 0153 y 413BA), Comahue, Argentina (proyecto UNC B 194). Esta contribución surgió como resultado del proyecto de cooperación bilateral México – Argentina CONACYT-CONICET- proyecto CONACYT 190519 y CONACYT 252148.

7. Referencias bibliográficas

- Alcala-Herrera J.A., Jacob J.S., Machain Castillo M.L., Neck R.W. 1994. Holocene palaeosalinity in a Maya wetland, Belize, inferred from the microfaunal assemblage. *Quaternary Research* 41:121-130.
- Ariztegui D., Anselmetti F.S., Gilli A., Waldmann N. 2008. Late Pleistocene environmental changes in Patagonia and Tierra del Fuego: a limnogeological approach. In: Rabassa J. (ed). *The Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego*, Elsevier Science, London, pp. 241-253.
- Bradbury J.P., Forester R.M., Bryant W.A., Covich A.P. 1990. Paleolimnology of Laguna de Cocos, Albion Island, Rio Hondo, Belize. In: DeLand Pohl M. (ed), *Ancient Maya wetland agriculture, excavations on Albion Island, northern Belize*. Westview Press, Boulder, CO, pp. 119-154.
- Cohen A.S., Dussinger R., Richardson J. 1983. Lacustrine paleochemical interpretations based on Eastern and Southern african ostracodes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 43:129-151.
- Cohen A., Morin G. 1990. Patterns of reproduction in ostracodes: a review. *J Crustacean Biol* 10:184-211.
- Cohuo S., Pérez L., Karanovic I. 2014. On *Limnocytherina axalapasco*, a new freshwater ostracod (Ostracoda: Limnocytheridae) from Mexican crater lakes. *Revista de Biología Tropical* 62:15-32.
- Cohuo S., Macario-Gonzalez L., Pérez L., Schwalb A. 2017. Overview of Neotropical-Caribbean freshwater ostracode fauna (Crustacea, Ostracoda), identifying areas of endemism and assessing biogeographical affinities. *Hydrobiologia* 786: 5. Doi:10.1007/s10750-016-2747-1.
- Coviaga C., Cusminsky G., Patricia Pérez A., Díaz A., Schwalb A., Alperín M., Viehberg F., Whatley R., Ariztegui D., Markgraf V. 2013. Distribution and Ecology of freshwater ostracods from northern Patagonia: an approach. *Naturalista sicil*, S. IV, XXXVII (1), pp. 83-84.
- Coviaga C., Cusminsky G., Baccalá N., Pérez P. 2015 . Dynamics of ostracod populations from shallow lakes of Patagonia: life history. *Journal of Natural History*. pp 1-25. <http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2014.981310>
- Curtis J., Hodell D., Brenner M. 1996. Climate variability on the Yucatan Peninsula (Mexico) during the past 3500 Years, and implications for Maya cultural evolution. *Quaternary Research* 46:37-47.

- Curtis J., Brenner M., Hodell D., Balsler R., Islebe G., Hoghiemstra H. 1998. A multi-proxy study of Holocene environmental change in the Maya lowlands of Peten, Guatemala. *Journal of Paleolimnology* 19:139-159.
- Curtis J., Brenner M., Hodell D.A. 2001. Climate change in the circum-Caribbean (late Pleistocene-to-Present) and implications for regional biogeography. In: Woods C.A., Sergile F.E. (eds), *Biogeography of the West Indies*. CRC Press, Boca Ration, FL, pp. 35-54.
- Cusminsky G., Pérez P., Schwalb A., Whatley R. 2005. Modern lacustrine ostracods from Patagonia, Argentina. *Revista Española de Micropaleontología* 37 (3): 431-450.
- Cusminsky G., Schwalb A., Pérez A., Pineda, D., Viehberg, F., Whatley R., Markgraf V., Gilli A., Ariztegui D., Anselmetti F. 2011. Late Quaternary environmental changes in patagonia as inferred from lacustrine fossil and extant ostracodes. *Biological Journal of the Linnean Society* 103: 397-408.
- Delorme L.D. 1989. *Methods in Quaternary Ecology # 7. Freshwater Ostracodes*. Geoscience Canada 16 85-90.
- Di Micco C. 2012. Análisis paleoambiental del Holoceno en Laguna Colorada, Puna Catamarqueña. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Inédito. 139 pp.
- Escobar J., Hodell D.A., Brenner M., Curtis J.H., Gilli A., Mueller A.D., Anselmetti F.S., Ariztegui D., Grzesik D.A., Pérez L., Schwalb A., Guilderson T.P. 2012. A ~43-ka record of paleoenvironmental change in the Central American lowlands inferred from stable isotopes of lacustrine ostracods. *Quaternary Science Reviews* 37:92-104.
- Forester R.M. 1983. Relationship of two lacustrine ostracode species to solute composition and salinity: Implications for paleohydrochemistry. *Geology* 11:435-438.
- Gilli A., Ariztegui D., Anselmetti F., Mc. Kenzie J., Markgraf V., Hajdas I., Mc Culloch R. 2005. Mid-Holocene strengthening of the Southern Westerlies in South America- Sedimentological evidences from Lago Cardiel, Argentina (49°S). *Global and Planetary Change* 49: 75.
- Goulden C.E. 1966. The history of Laguna de Petenxil: The animal microfossils. *Acad. Arts. Sci. Mem.* 17:84-120.
- Griffiths H.I., Holmes J.A. 2000. Non-marine ostracods and Quaternary palaeoenvironments. QRA Technical Guide No. 8. Quaternary Research Association, London, 179 pp.
- Hodell D.A., Curtis J.H., Jones G., Higuera-Gundy A., Brenner M., Binford M., Dorsey K. 1991. Reconstruction of Caribbean climate change over the past 10,500 years. *Nature* 352:790-793.
- Hodell D.A., Curtis J.H., Brenner M. 1995. Possible role of climate in the collapse of Classic Maya civilization. *Nature* 375:391-394.
- Holmes J.A., Street-Peffott F.A., Ivanovich M., Peffott R.A. 1995a. A late Quaternary paleolimnological record from Jamaica based on trace-element chemistry of ostracod shells. *Chemical Geology* 124:143-160.
- Holmes J.A., Street-Perrott F.A., Heaton T.H.E., Darbyshire D.P.F., Davies N.C., Hales P.E. 1995b. Chemical and isotopic composition of karstic lakes in Jamaica, West Indies. *Hydrobiologia* 312:121-138.
- Holmes J.A. 1997. Recent non-marine Ostracoda from Jamaica, West Indies. *Journal of Micropaleontology* 16:137-143.

- Holmes J.A., Darbyshire D.P.F., Heaton T.H.E. 2007. Paleohydrological significance of late Quaternary strontium isotope ratios in a tropical lake. *Chemical Geology* 236:281-290.
- Horne D., Cohen A., Martens K. 2002. Taxonomy, morphology and biology of quaternary and living ostracoda. *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research*, Geophysical Monograph 131, American Geophysical Union, Washington D.C, USA, pp. 5-36.
- Horne, D., Schon, I., Smith, R.J., Martens, K. 2005. What Are Ostracoda? A Cladistic Analysis of the Extant Super-Families of the Subclasses Myodocopa and Podocopa (Crustacea: Ostracoda). In: Koenemann S., Jenner R. (eds), *Crustacea and Arthropod Relationships*, CRC Press: 249-273.
- Ikeya N., Tsukagoshi A., Horne D. 2005. Preface: The phylogeny, fossil record and ecological diversity of ostracod crustaceans. *Hydrobiologia* 538:vii-xiii.
- Karanovic I. 2012. *Recent freshwater ostracods of the world*. Springer Heidelberg, 608 pp.
- Keyser D. 1977. Brackwasser-Cytheracea aus Süd-Florida (Crust.: Ostracoda: Podocopa). *Abh Verh naturwiss Ver Hamburg* 20:43-85.
- Lalana R., Ortiz M., Varela C. 2005. Primera adición a la lista de los crustáceos no decápodos de Cuba. *Revista Biología* 19:50-56.
- Laprida C. 2006. Ostrácodos recientes de la llanura pampeana, Buenos Aires, Argentina: ecología e implicaciones paleolimnológicas. *Ameghiniana* 43:181-204.
- Laprida C., Diaz A., Ratto N. 2006. Ostracods (Crustacea) from thermal waters, southern Altiplano, Argentina. *Micropaleontology* 52: 177-188.
- Laprida C., Ballent S. 2008. Ostracoda. En Camacho H. (ed), *Los Invertebrados fósiles*, 2nda edición, Fundación de Historia Natural Félix de Azara y Universidad CAECE, Buenos Aires, pp. 624.
- Laprida C., Orgeira M.J., García Chapori, N. 2009. El registro de la Pequeña Edad de Hielo en las lagunas pampeanas. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*: 603.
- Laprida C., Plastani M.S, Irurzún A., Gogorza C., Navas A.M., Valero-Garcés, B., Sinito A.M. 2014. Mid-Late Holocene Climate and Trophic States in a Shallow Lake from the Southern Pampa Plain, Argentina. *Journal of Limnology* 74, 325-339.
- Leyden B., Brenner M., Hodell D.A., Curtis J.H. 1993. Late Pleistocene climate in the Central American Lowlands. In: Swart P.K., Lohmann K.C., McKenzie J., Savin S. (eds), *Climate change in continental isotopic records*. American Geophysical Union, Washington, DC, pp. 255-355.
- Leyden B., Brenner M., Hodell D.A., Curtis JH. 1994. Orbital and internal forcing of climate on the Yucatan Peninsula for the past ca. 36 ka. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 109: 193-210.
- Leyden B., Brenner M., Whitmore T., Curtis J., Piperno D., Dahlin B. 1996. A record of long-and short term climatic variation from northwest Yucatán: Cenote San José Chulchacá. In: Scott F. (ed), *The Managed Mosaic: Ancient Maya Agriculture and Resource Use*. University of Utah Press, Salt Lake City, pp. 30-50.
- Martens K., Behen F. 1994. A checklist of the recent non-marine ostracods (Crustacea, Ostracoda) from the inland waters of South America and Adjacent islands. *Travaux scientifiques du Musée d'Histoire Naturelle de Luxembourg* 22: 1-81.
- Martens K., Schön I., Meisch C., Horne D. 2008. Global diversity of ostracods (Ostracoda, Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 185-193.

- Mesquita-Joanes F., Smith A.J., Viehberg FA. 2012. The ecology of Ostracoda across levels of biological organisation from individual to ecosystem: a review of recent developments and future potential. In: Horne D.J., Holmes J., Rodriguez-Lazaro J., Viehberg F.A. (eds), *Ostracoda as proxies for Quaternary climate change*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 15-35.
- Montes de Oca F., Martin R., Massaferrero J., Laprida C. 2014. Chironomids as indicators of paleoproductivity in the Pampas region, Argentina. 4th International Paleontological Congress, Mendoza. 1pp.
- Mourguiart P., Carbonel P., Peypouquet J.P., Wirrmann D., Vargas C. 1986. Late Quaternary paleohydrology of Lake Huinamarca (Bolivia). *Hydrobiologia* 143:191-197.
- Mourguiart P., Carbonel P. 1994. A quantitative method of palaeolake-level reconstruction using ostracod assemblages: an example from the Bolivian Altiplano. *Hydrobiologia* 288:183-193.
- Mourguiart P., Corrège T., Wirrmann D., Argollo J., Montenegro M.E., Pourchet M., Carbonel P. 1998. Holocene palaeohydrology of Lake Titicaca estimated from an ostracod-based transfer function. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 143:51-72.
- Mourguiart P. 2000. Historical changes in the environment of lake Titicaca: Evidence from ostracod ecology and evolution. *Advances in Ecological Research* 31: 497-520.
- Mueller A.D., Anselmetti F.S., Ariztegui D., Brenner M., Hodell D.A., Curtis J.H., Escobar J., Gilli A., Grzesik D.A., Guilderson T.P., Kutterolf S., Plötze M.L. 2010. Late Quaternary palaeoenvironment of northern Guatemala: evidence from deep drill cores and seismic stratigraphy of Lake Petén Itzá. *Sedimentology* 57:1220-1245.
- Ohlendorf C., Fey M., Massaferrero M., Haberzettl T., Laprida C., Lücke A., Maidana N., Mayr C., Oehlerich M., Ramón Mercau J., Wille M., Corbella H., St-Onge G., Schäbitz F. y Zolitschka B. en prensa. Late Holocene hydrological history and evidence for a 4.2 ka BP dry event inferred from the sediments of Laguna Cháitel (southeastern Argentina). *Palaeogeography, Palaeoecology, Palaeoclimatology*.
- Plastani M.S., Laprida C., Ramón Mercau J., Massaferrero J., Lami A. 2013. Hydrological changes in a small Lake at the Pampean Region of South American Central Plains (Argentina) during the Last Centuries. *International Symposium on Ostracoda, ISO 17*. Roma, Italia. *International Symposium on Ostracoda, ISO 17*. Roma, Italia. July 23-26, 2013.
- Plastani M.S., Montes De Oca F., Massaferrero J., Lami, A., Laprida C. 2014. Impacto antrópico y climático durante el siglo XX en la Laguna La Barrancosa, Buenos Aires, Argentina. 19° Congreso Geológico Argentino. Junio 2014. Córdoba
- Pérez L. 2010. Non-marine ostracodes from the Yucatán Peninsula as late Quaternary paleoenvironmental indicators. *Architektur, Bauingenieurwesen und Umweltwissenschaften*. Technische Universität Braunschweig, Braunschweig, p. 264.
- Pérez L., Bugja R., Massaferrero J., Steeb P., van Geldern R., Frenzel P., Brenner M., Scharf B., Schwalb A. 2010a. Post-Columbian environmental history of Lago Petén Itzá, Guatemala. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas* 27:490-507.
- Pérez L., Lorenschat J., Bugja R., Brenner M., Scharf B., Schwalb A. 2010b. Distribution, diversity and ecology of modern freshwater ostracodes (Crustacea), and hydrochemical characteristics of Lago Petén Itzá, Guatemala. *Journal of Limnology* 69:146-159.

- Pérez L., Frenzel P., Brenner M., Escobar E., Hoelzmann P., Scharf B., Schwalb A. 2011. Late Quaternary (24-10 ka BP) environmental history of the Neotropical lowlands inferred from ostracodes in sediments of Lago Petén Itzá, Guatemala. *Journal of Paleolimnology* 46:59-74.
- Pérez L., Curtis J., Brenner M., Hodell D., Escobar J., Lozano S., Schwalb A. 2013. Stable isotope values ($\delta^{18}\text{O}$ & $\delta^{13}\text{C}$) of multiple ostracode species in a large Neotropical lake as indicators of past changes in hydrology. *Quaternary Science Reviews* 66:96-111.
- Pérez L., Lozano S., Caballero M. 2015. Non-marine ostracodes from highland lakes in east-central Mexico. *Revista de Biología Tropical* 63.
- Purper I. 1979. Cenozoic ostracods of the upper amazon basin, Brazil. *Pesquisas* 12: 209-281.
- Purper I., Pinto D. 1980. Interglacial ostracodes from Wasa Mayu, Bolivia. *Pesquisas* 13: 161-184.
- Ramírez F.C. 1967. Ostrácodos de lagunas de la Provincia de Buenos Aires, *Rev. Mus. La Plata (N.S), Zool (73)* 10: 5-54.
- Ramos L., Alperín M., Perez P., Coviaga C., Schwalb A., Cusminsky G. 2015. *Eucypris fontana* (Graf, 1931) (Crustacea: Ostracoda) in recent environments of Patagonia Argentina: a geometric morphometric approach. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 51: 125-138.
- Ramón Mercau J., Laprida C. 2010. Bioproxies of lacustrine sediments from Southern Patagonia: filling the gap on ostracod biodiversity in the southernmost tip of South America. 1er Workshop Argentino de PASADO y Primer reunión internodas Proyecto Interdisciplinario Patagonia Austral, 63-68.
- Ramón Mercau J., Maidana N., Orpella G., Laprida C., Massaferrero J., Fey M., SALSA team. 2010. Multiproxy Reconstruction of Hydrological Changes during the Late Holocene in Laguna Cháitel (Southern Patagonia, Argentina). PAGES, Valdivia, octubre 2010, 128.
- Ramón Mercau J., Echazú D., Orpella G., Quintana F., Roggora M., Laprida C., Madana N., Bianchi M.M., Massaferrero J. 2011. Modern freshwater organism analysis for quantitative paleoenvironmental reconstructions in southern Patagonia (Santa Cruz., Argentina) 3rd international Pasado Workshop. Montreal, Canada. 21-23 marzo de 2011. *Actas*: 38-44.
- Ramón Mercau M.J. 2015. Estudio de la biodiversidad de Ostrácodos actuales y su aplicación en la elaboración de funciones de transferencia para reconstrucciones paleoambientales del Holoceno en la provincia de Santa Cruz (50-52° S). Tesis de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Inédito.
- Schön I., Rossetti G., Martens K. 2009. Darwinulid Ostracods: Ancient. Asexual. Scandals. or."Scandalous.Gossip? In: Schön I., Martens K. and van Dijk P. (eds), *Lost sex: the evolutionary biology of parthenogenesis*: 217-240.
- Schwalb A., Burns S., Kelts K. 1999. Holocene environments from stable isotope stratigraphy of ostracods and authigenic carbonate in Chilean Altiplano lakes. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 148: 153-168.
- Schwalb A., Burns S., Cusminsky G., Kelts K., Markgraf V. 2002. Assemblage diversity and isotopic signals of modern ostracodes and host waters from Patagonia, Argentina. *Paleogeography Paleoclimatology, Palaeoecology* 187: 323-339.

- Schwalb A. 2003. Lacustrine ostracods as stable isotope recorders of Late glacial and Holocene Environmental dynamics and climate. *Journal of Paleolimnology* 29, 267-351.
- Viehberg F. 2006. Freshwater ostracod assemblages and their relationship to environmental variables in waters from northeast Germany. *Hydrobiologia* 571:213-224.
- Viehberg F.A., Mesquita-Joanes F. 2012. Chapter 4 - Quantitative Transfer Function Approaches in Palaeoclimatic Reconstruction Using Quaternary Ostracods. In: Horne D.J., Holmes J.A., Rodriguez-Lazaro J., F.Viehberg (eds), *Developments in Quaternary Sciences*. Elsevier, pp. 47-64.
- Whatley R., Cusminsky G. 1995 Quaternary lacustrine ostracoda from northern Patagonia Argentina. In: Riha J. (ed), *Ostracoda & Biostratigraphy*, Rotterdam, pp. 303-310.
- Whatley R., Cusminsky G. 1999. Lacustrine ostracoda and late Quaternary palaeoenvironments from the lake Cari-Laufquen region, Rio Negro province, Argentina. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology* 15: 229-239.
- Whatley R., Cusminsky G. 2000. Lacustrine ostracods from Northern Patagonia: a review. Lake basins through space and time. In Kelts K. and Gierlowsky-Kordesh E. (eds), *American Association Petroleum Geology Studies in Geology Tulsa* 45: 51-590.
- Whitmore T.J., Brenner M., Curtis J.H., Dahlin B.H., Leyden B.W. 1996. Holocene climatic and human influences on lakes of the Yucatán Peninsula, Mexico: an interdisciplinary paleolimnological approach. *The Holocene* 6:273-287.
- Yassini I., Jones B. 1995. Recent Foraminiferida and Ostracoda from estuarine and shelf environments on the southeastern coast of Australia. The University Wollongong Press, Australia, 484 pp.

Capítulo 9: Diptera: Chironomidae

Julieta Massafarro, CONICET, CENAC/APN Fagnano 244, Bariloche, Argentina, julimassafarro@hotmail.com

Alberto Araneda, Facultad de Ciencias Ambientales y Centro EULA-Chile Universidad de Concepción, Chile, aaraneda@udec.cl

Luciana Motta, CONICET, CENAC/APN Fagnano 244, Bariloche, Argentina, motta.lucianam@gmail.com

Palabras clave: Diptera: Chironomidae, Paleoindicadores lacustres, Cuaternario.

1. Introducción

La familia Chironomidae (Insecta: Diptera) comprende a uno de los grupos de insectos más representativos en abundancia y diversidad en los ambientes acuáticos continentales, donde sus estados larvales son parte fundamental en la ecología de la comunidad bentónica de estos ambientes (Walker 1987; Paggi 2002). Actualmente, se conocen alrededor de 5,000 especies descritas en el mundo (Cranston y Martin 1989) reconociéndose más de 1,000 especies sólo para Europa (Lindegaard 1997) , si bien algunas estimaciones señalan que existiría una cantidad de especies cercana a las 15,000 (Cranston 1995a).

Entre las características de sus estados larvales, se destaca la conformación de su cápsula cefálica que, a diferencia de otros grupos de insectos, se encuentra altamente quitinizada. Esto hace que una vez completado el estadio larval, la capsula cefálica prácticamente no se degrada, siendo almacenada en los sedimentos de fondo del ecosistema acuático por cientos o incluso miles de años. Es la preservación de su cápsula cefálica, sumada a su estrecha variación con parámetros como la temperatura, el oxígeno disuelto o el estado trófico de los ambientes en los que habitan, lo que les permite ser un excelente indicador de las condiciones ambientales pasadas de un ecosistema (Battarbee 2000; Porinchu et al. 2007). Han sido varios los estudios, principalmente en la región Holártica, que han utilizado a los quironómidos como indicadores de condiciones ambientales pasadas. Walker et al. (1991) presentan una de las primeras reconstrucciones de temperatura en base a los quironómidos en Canadá, expandiendo luego su trabajo en 1997 (Walker et al. 1997). En Europa son clásicos los trabajos de Brooks y Birks (2000), Brooks (2006), Olander et al. (1997, 1999), Heiri et al. (2003), Larocque et al. (2001), Larocque y Hall (2003), que también utilizan a los quironómidos para realizar reconstrucciones cuantitativas de temperatura. Quinlan y Smol (2001), utilizan una función de transferencia para reconstruir los niveles pasados de oxigenación de un lago. Otros, utilizan a los quironómidos para realizar reconstrucciones cuantitativas de salinidad y estado trófico (Heinrichs et al. 1999; Langdon et al. 2006).

Sin embargo, en la región Neotropical, aún son pocos los estudios en comparación con la región Holártica, existiendo también una gran disparidad de investigaciones dentro de la misma ecoregión. En México y Centroamérica, Pérez et al. (2013) realizan los primeros estudios sobre la ecología y distribución de especies como pre-requisito a la reconstrucción de condiciones ambientales pasadas durante el Cuaternario. En Sudamérica, existían únicamente estudios netamente cualitativos (Massaferro et al. 2002; 2005), y recientemente se estableció un set de calibración para el desarrollo de una función de transferencia entre quironómidos y temperatura, en la Patagonia Argentina, que ha sido aplicada a secuencias paleoecológicas de la región occidental de los Andes (Massaferro et al. 2014), estando aún en desarrollo un set de calibración propio para Chile (Araneda et al. 2013a).

En este capítulo se presenta el uso de los quironómidos como paleoindicadores ambientales en la región Neotropical, discutiéndose aspectos relativos a las variables que se pueden reconstruir en base a este grupo de insectos, a los sectores geográficos que han sido cubiertos por estos estudios a las interrogantes respecto del pasado climático, que estos estudios pueden ayudar a responder y a los estudios futuros que pueden realizarse en esta temática en diferentes subzonas de la región Neotropical.

2. Biología

Ciclo de vida y reproducción

Los quironómidos (Diptera: Nematocera) son insectos miembros de la familia Chironomidae. Las larvas son acuáticas y de vida bentónica, por lo que se encuentran estrechamente relacionadas con los sedimentos de los ambientes en que habitan, y constituyen uno de los grupos dominantes de macroinvertebrados bentónicos de aguas dulces, tanto en abundancia como en riqueza de especies (Armitage et al. 1995, Ferrington 2008). Los quironómidos son insectos holometábolos, que pasan por varios estadios durante su desarrollo: huevo, larva, pupa y adulto (Fig. 1). Dependiendo de la especie y de la estacionalidad, pueden tener ciclos de vida univoltinos o multivoltinos (Pinder 1986; Armitage et al. 1995). En ciertas especies se han registrado ciclos de vida de unos pocos días (Nolte 1996) y también hasta de años inclusive (Butler 1982).

Los adultos son el estadio de vida más corta (uno o dos días) y pueden volar inmediatamente luego de eclosionar de la pupa. Su “rol” fundamental es la reproducción, para lo que machos y hembras se congregan en grandes “nubes” o “enjambres” en los márgenes o sobre los cuerpos de agua, donde se produce la cópula. Posteriormente, las hembras depositan los huevos en masas gelatinosas sobre la superficie del agua, y mueren momentos después. Los huevos se transportan por la columna de agua hasta llegar al bentos u otros sustratos (madera, vegetación sumergida, rocas, etc.), donde se desarrollarán las larvas. El período más largo del ciclo de vida de los quironómidos transcurre en esta etapa, donde las larvas pasan por cuatro

estadios (I, II, III y IV). A partir de la larva IV se desarrolla una pupa que migra hacia la superficie, donde emerge el adulto. Las pupas, así como los adultos, son estadios cortos (de unas horas hasta unos pocos días) de vida libre (en la columna o debajo de la película de agua). Una vez que emerge el adulto, queda la cápsula blanda vacía de la pupa, llamada “exuvia”.

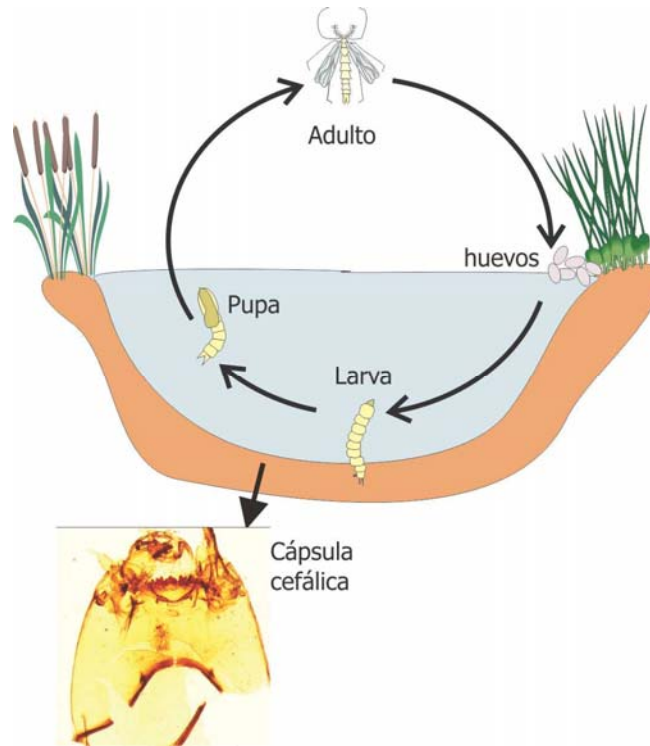


Figura 1. Ciclo de vida de los quironómidos

Morfología

Larva: Las larvas de los quironómidos pueden medir entre 0.5 y 10 mm, y el cuerpo consta de dos partes bien diferenciadas: una cabeza muy desarrollada con dientes, mandíbulas y antenas; y un cuerpo segmentado, con propatas y cercos presentes sólo en los segmentos anterior y posterior (Armitage et al. 1995). Ambas partes permiten diferenciar las larvas de quironómidos de otras familias de dípteros, pero es la cápsula cefálica la parte fundamental para estudios paleolimnológicos, ya que es la única parte del cuerpo que se preserva casi completamente en los sedimentos, y es utilizada para reconstrucciones ambientales. (Fig. 2)

Pupa: Las exuvias de las pupas miden entre 6 y 9 mm y son utilizadas en estudios ecológicos actuales de diversidad y monitoreos ambientales, ya que quedan flotando en la superficie y márgenes de los cuerpos de agua (Raunio et al. 2011). El cuerpo de la pupa consta de 3 partes: cefalotórax, tórax y abdomen. El cefalotórax o zona cefálica es la parte más prominente, y posee un órgano característico llamado cuerno cefálico,

importante a nivel taxonómico. El abdomen es alargado, y consta de varios segmentos que poseen espinas, espínulas y tubérculos, muy variable según las distintas especies y presentando distintas estructuras (pelos, setas y cercos), también importantes para su identificación, en la mayoría de los casos, a nivel específico.

Adulto: Los adultos de los quironómidos son aéreos, pueden medir entre 9 mm y 10 mm, y su morfología general es bastante similar a la de los mosquitos (sólo que los quironómidos no pican y carecen de alas escamosas). Los machos de esta Familia son reconocidos, y se diferencian de las hembras, por sus antenas plumosas. La cabeza presenta dos ojos grandes alargados dorsalmente, y antenas formadas por un pedicelo voluminoso en ambos sexos, con un flagelo típicamente plumoso en los machos. El tórax posee un escudo bien desarrollado, con presencia de setas. El abdomen es típicamente alargado, y las alas suelen estar bien desarrolladas, con microtriquios y diferentes patrones de pigmentación, usualmente marrones oscuros o negros (Paggi 2009).

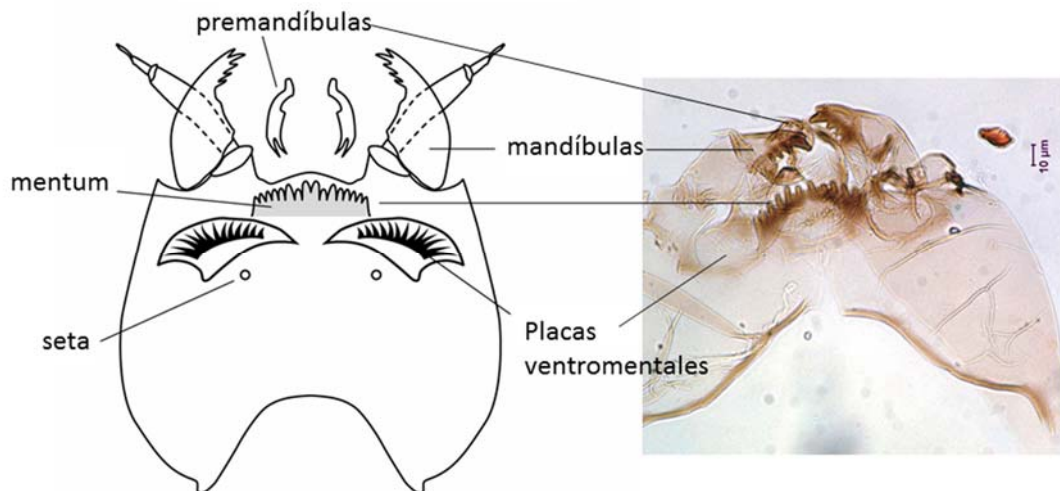


Figura 2. Detalle de la cápsula cefálica de la larva (modificado de Brooks et al. 2007).

Ecología y hábitat

Debido a la ubicuidad, abundancia, gran sensibilidad a diferentes factores ambientales y a la excelente preservación de las cápsulas cefálicas quitinosas en los sedimentos lacustres, las larvas de los Chironomidae son consideradas una excelente herramienta limnológica y paleolimnológica, utilizándose para reconstruir cambios climáticos y ambientales de los ambientes acuáticos que habitan, a escalas locales y regionales (Eggermont y Heiri 2012; Marziali y Rossaro 2013).

Los estadios inmaduros habitan casi todos los tipos de ambientes acuáticos existentes en el planeta. Tanto en ambientes marinos como en cuerpos de agua

continentales (ríos, arroyos, lagos, lagunas, manantiales, mallines, charcas, aguas temporales y fitotélmicas, etc.), desde los polos hasta el Ecuador, desde el nivel del mar hasta grandes alturas como lagos de Tibet, Himalayas, Alpes y Andes (Kohshima 1984; Hamerlik et al. 2012; Massaferro et al. 2014; Rossaro et al. 2006). Muchas de las casi 15,000 especies de quironómidos conocidas a nivel global han colonizado un amplio rango de condiciones ambientales de temperatura, pH, salinidad, profundidad, tipos de sustrato y productividad, entre otras (Walker y Mathewes 1989; Lotter et al. 1997; Larocque et al. 2001). Si bien la mayoría de las especies poseen estadíos larvales estrictamente acuáticos, existen algunas pocas especies con estadíos inmaduros de ambientes terrestres y semi-terrestres, como *Smittia* o *Mesosmittia* (Donato 2011).

Los quironómidos juegan un rol ecológico fundamental en el funcionamiento de los ambientes acuáticos que habitan, considerados organismos “keystone” (Péry et al. 2004); las larvas pueden representar más de un 60% de los macroinvertebrados bentónicos presentes en ambientes lacustres (Fjellheim et al. 2009), por lo que son importantes productores secundarios y eslabones de la cadena trófica. Son recicladores de la materia orgánica alóctona y autóctona (Hirabayashi y Wotton 1998; Jones y Grey 2004), y constituyen parte importante de la dieta de muchas especies de peces (Juncos et al. 2011), aves (Ashley et al. 2000), otros macroinvertebrados (Williner 2007) y anfibios (Cuello et al. 2009). Además, por su ciclo de vida acuático-aéreo, son considerados importantes organismos subsidiarios de cadenas tróficas en hábitats contiguos (Knight et al. 2005; Wesner 2010).

Biogeografía

La familia Chironomidae es un grupo cosmopolita, que se encuentra presente en todas las regiones zoogeográficas del planeta. Su distribución en la región Holártica se encuentra bien conocida y estudiada, no tanto así en las regiones Afrotropical, Australiana y Neotropical, lo cual puede ser más bien un reflejo de la larga tradición de estudio en las regiones boreales, que un patrón biológico real (Cranston 1995). Los Chironomidae tropicales han sido estudiados tempranamente por Brundin (1966) y Reiss (1972) en Chile y el sur de Argentina; Fittkau (1971) en Brasil; Palornaki (1987) en Nicaragua, y Roback y Coffman (1983) y Nolte (1989) en zonas de Venezuela y Bolivia. Ashe et al. 1987, realiza una revisión extensiva de la zoogeografía de quironómidos a nivel global, considerando los trabajos pioneros de Edwards (1931) y Brundin (1966) realizados para las regiones patagónicas de Argentina y Chile. Para ese entonces, 109 géneros (15 endémicos), 369 especies y todas las subfamilias (excepto Buchonomyiinae) fueron reportadas para la región Neotropical. Ferrington 2008, en su revisión de diversidad global, reporta 154 géneros y 618 especies para la región.

Trabajos realizados por Donato et al. (2008, 2009) en el sur de Argentina, se encuentran en buena concordancia con estos estudios pioneros, con algunas

actualizaciones para las familias Podonominae, Chironominae, Tanypodinae y Aphroteniinae. De las 11 subfamilias actualmente reconocidas, 10 están presentes en América del sur (Spies y Reiss 1996). En Patagonia se han registrado 9 subfamilias, una de ellas la Chilenomyiinae, endémica de la zona (Argentina-Chile). Las subfamilia más numerosa es Orthoclaadiinae, seguida por Podonomiinae, Chironomiidae y Tanypodinae (Donato et al. 2009).

Taxonomía y sistemática

Los quironómidos pertenecen al Suborden Nematocera. La familia Chironomidae se divide en 11 subfamilias (Aphroteniinae, Buchonomyiinae, Chilenomyiinae, Chironominae, Diamesinae, Orthoclaadiinae, Podonominae, Prodiamesinae, Tanypodinae, Telmatogetoninae, Usambaromyiinae) y 22 tribus nominales. Aunque las especies individuales se producen en una gran variedad de hábitats, un total de 339 géneros y 4,147 especies son inequívocamente acuáticas en sus estadios inmaduros (Ferrington 2008).

En la región Neotropical, existe una cierta diferenciación en la distribución de las Subfamilias para las zonas tropical (parte de México y Centroamérica) y subtropical (Sudamérica) (Tabla 1), si bien aún son pocos los estudios actuales para el Neotrópico (Ashe et al. 1987, Vinogradova y Riss 2007, Donato et al. 2009; Spies et al. 2009). En la Tabla 1 se sintetizan las Subfamilias registradas por los estudios de la región Neotropical.

Tabla 1. Presencia y abundancia de Subfamilias de Chironomidae en los Neotrópicos.

	Sudamérica (Andes Sur)	Sudamérica (Pampas)	Centroamérica	México
Aphroteniinae	X			
Chilenomyiinae	X			
Chironominae	X	X	X	X
Diamesinae	X	X	X	
Orthoclaadiinae	X	X	X	X
Podonominae	X		X	
Prodiamesinae	X			
Tanypodinae	X	X		X
Telmatogetoninae	X		X	
X SubFam presente				
X SubFam más abundante				

3. Metodología

Actual

Dado su amplio rango de adaptaciones a diferentes condiciones ambientales, los quironómidos han sido utilizados en la clasificación de lagos (Thieneman 1922; Saether 1979), y actualmente se ha acrecentado su uso en estudios ecológicos de diversidad y de monitoreo e impacto ambiental (Raunio et al. 2011). En este último tipo de estudios se utilizan más comúnmente las pupas o exuvias, cuya obtención e identificación es mucho más rápida y simple que la de las larvas. Sin embargo, sería ideal el muestreo del ciclo completo, es decir, larva, pupa y adulto, para poder obtener una mejor resolución taxonómica. Para esto, se necesita criar los individuos lo cual es dificultoso ya que, por su condición de estenotópicos, necesitan condiciones de laboratorio muy específicas para sobrevivir. Los métodos de muestreo de larvas y exuvias son diferentes (dado que ocupan diferentes tipos de hábitat dentro del cuerpo de agua), y los más comúnmente utilizados en ambientes lacustres son los siguientes:

Métodos de muestreo cuantitativos: En ambientes lénticos, se utilizan comúnmente técnicas de dragado especialmente para coleccionar larvas. Las dragas pueden utilizarse en fondos con sedimentos relativamente blandos y poco rocosos, ya que el aparato debe apoyarse completamente sobre el fondo y enterrarse levemente, para poder así obtener la muestra luego de cerrarse completamente. Hay varios tipos de dragas (ej., Birge-Eckman, Ponar, Petersen, VanVeen, etc.) que varían según el tipo de fondo y la profundidad a la que se desee muestrear. La ventaja de este método es que se obtiene una muestra de área conocida (según las dimensiones del área de mordida de la draga) y abundante sedimento. Una de las desventajas es que no puede utilizarse en fondos rocosos o de sedimentos duros, y que algo del material fino puede filtrarse por las compuertas de la draga en el ascenso a la superficie. El sedimento obtenido debe ser guardado en bolsas plásticas y fijado *in situ* con formol 10%. Una vez en laboratorio, se tamiza el sedimento por mallas de entre 100 y 210 μm , y se sigue el procedimiento explicado anteriormente (ver "Paleo") para la separación de los individuos y su posterior identificación.

Métodos de muestreo cualitativos: Los métodos cualitativos son preferidos cuando lo que se desea es hacer monitoreos, o caracterizar la biodiversidad de un cuerpo de agua. Para larvas y pupas litorales, se utiliza comúnmente las redes "kick" que consisten en una red de malla no superior a 300 micras, sujeta a un mango largo. La red se apoya en el fondo del río en dirección aguas abajo y se remueve el material rial el fondo con la ayuda de las botas, de esta forma el material removido queda atrapado en la red. Para coleccionar pupas se utilizan redes de malla fina, y se recogen los individuos coleccionados, que se concentran en el copo tras realizar varios barridos sobre la superficie del agua, o cercano al fondo litoral. Si las redes se pasan cerca del fondo, pueden llegar

a obtenerse larvas, pero lo que se obtiene principalmente con estos métodos son las exuvias o pupas de los márgenes y superficie (Ramirez 2010). Las muestras obtenidas se colectan en bolsas plásticas, y se fijan *in situ* con formol 10%. Una vez en laboratorio, se pasa directamente a la fase de identificación (ya que por lo general no se concentra sedimento en las redes, sólo los individuos colectados).

Paleo

Además de su amplia distribución y abundancia en todo tipo de ambientes, los quironómidos son una excelente herramienta paleolimnológica dado que sus cápsulas cefálicas quitinosas se preservan muy bien en los sedimentos lacustres. Las cápsulas cefálicas poseen características morfológicas que permiten su identificación taxonómica (ver “*Taxonomía*”, Fig. 2). Si la conservación es adecuada y la cápsula se encuentra completa, a veces puede llegarse hasta nivel de especie.

Muestreo de Sedimento: El primer paso es obtener muestras de sedimento del fondo de los lagos. El método más tradicional es aquel que extrae los sedimentos de forma “cronológica” por medio de testigos sedimentarios cilíndricos o “cores”. Para estudios paleolimnológicos, en los cuales el orden temporal es clave, se trabaja obteniendo testigos sedimentarios de la zona profunda de los lagos. Se considera que cores de la zona profunda proveen una muestra representativa de la comunidad que habita el cuerpo del agua (Porinchu y McDonalds 2003).

Submuestreo: Dependiendo de la resolución que se desea investigar, los testigos son luego submuestreados cada 0.5–1 cm, que son datados isotópicamente para obtener la ventana temporal/edad de las muestras. Generalmente la determinación de la temporalidad se establece mediante la aplicación de técnicas radiométricas, como el ^{210}Pb para secuencias recientes (<150 años; Smith y Walton 1980) y/o ^{14}C , para secuencias de mayor edad (Smol et al. 2002). La cantidad de sedimento necesaria para obtener un número suficiente de cápsulas (entre 50-150) varía dependiendo del tipo de lago, pero varía generalmente entre 1 y 5 gramos. Sin embargo, en lagos oligotróficos o hiperoligotróficos esto no suele ser suficiente, dado que la concentración de las cápsulas en los sedimentos es mucho menor. Una vez submuestreado el sedimento, la metodología utilizada sigue procedimientos extensamente descritos en la bibliografía (Walker 1995, 2001; Massaferró y Brooks 2002; Porinchu y McDonalds 2003), que involucran básicamente el tratamiento químico y filtrado por tamices de separación (entre 100 y 200 micras), para luego pasar a la remoción de las cápsulas bajo lupa (comúnmente llamada fase de “picking” o “sorteo”).

Tratamiento químico leve: Los gramos de sedimento obtenidos son calentados a 70°C, defloculados en una solución 10% KOH durante unos 20–30 minutos. Esta solución ayuda a limpiar las cabezas de sustancias coloidales, y clarearlas para una fácil

separación. Una vez pasado el tiempo, se corta la reacción con H₂O, y se tamiza la muestra con mallas de entre 95 y 210 µm, lavando cuidadosamente para retener las cápsulas cefálicas.

Separación, montaje e identificación: Las cápsulas cefálicas son separadas a mano del material obtenido del tamiz, bajo lupa estereométrica (25-40 x), utilizando una bandeja Bogorov y pinzas de separación. Una vez finalizado el “picking” de las cápsulas, deben ser montadas en portaobjetos (con la zona ventral hacia arriba) utilizando Euparal (matriz para montaje permanente) o alternativamente Hydromatrix®. La identificación se realiza bajo microscopio óptico, utilizando claves taxonómicas (ej., Widerholm 1983; Cranston 1995; Epler 1995, Ruiz.Moreno et al. 2000; Massaferrero y Brooks 2002; Massaferrero et al. 2013).

4. El uso de los quironómidos en paleoecología

La aplicación de los quironómidos fósiles como bioindicadores lacustres en la región Neotropical comienza en la década de los 90 (citas), si bien existe un trabajo anterior (Binford 1982) que realiza un estudio combinado de quironómidos, ostrácodos y cladóceros para interpretar cambios del nivel del lago en una secuencia lacustre del Lago Valencia (Venezuela) de 12,500 ¹⁴C años AP. Este estudio, es así pionero en cuanto a reconstrucciones ambientales en base a múltiples bioindicadores, sin embargo, carece de una adecuada resolución taxonómica y de un marco cronológico confiable que torna imprecisa la interpretación de los resultados obtenidos.

Hacia fines de los 80, el uso de los quironómidos fósiles como paleoindicadores estaba ya en boga en el Hemisferio Norte y ya se vislumbraba el potencial de estos insectos como paleo-termómetros (Walker 1990; Walker et al. 1991, 1992, 1993; Levesque et al. 1993, Lotter et al. 1997; Olander et al. 1997, 1999; Battarbee 2000). Mientras tanto en el Hemisferio Sur, se comenzaban los primeros estudios cualitativos de quironómidos fósiles. Estos trabajos se desarrollaron principalmente en la región o distrito de los lagos glaciares patagónicos de Sudamérica, en Chile y Argentina (Ariztegui et al.1997; Bianchi et al. 1997, 1999; Corley y Massaferrero 1998; Massaferrero y Corley 1998) y algunos en Brasil (Andrade-Morrave 1994, 1999).

Actualmente, los estudios de quironómidos fósiles como paleoindicadores se han incrementado, y si bien Patagonia sigue siendo la región con más estudios realizados (Araneda et al. 2007, 2013 a,b; Massaferrero y Brooks 2002; Massaferrero et al. 2004, 2005, 2013; Massaferrero y Vandergoes 2007, 2013; Massaferrero et al.2009; Massaferrero y Larocque 2013; Massaferrero et al. 2014, Urrutia et al. 2007; 2010), aparecen nuevas investigaciones en la región Neotropical, especialmente México (Perez et al. 2010), Centroamérica (Abril Ramírez et al. 2014, Wu et al. 2015) y Brasil (Andrade-Morrave y Rocha 2001). A continuación, se presenta el estado de las investigaciones efectuadas

hasta el presente a partir del uso de quironómidos fósiles lacustres en áreas claves de la región Neotropical.

Centroamérica

Los estudios de quironómidos fósiles en Centroamérica se inician en Guatemala (Perez et al. 2010) y posteriormente en Colombia (Abril Ramirez 2011; Abril Ramirez et al. 2014). En el Lago Petén Itzá, Guatemala, se realiza un estudio multidisciplinario de ostrácodos, diatomeas y quironómidos en testigos sedimentarios de 40 cm (Perez et al. 2010). Los testigos, que abarcan los pasados ~525 años de historia, muestran cambios en los niveles del lago y cambios en el estado trófico que el Lago Petén Itzá ha sufrido desde el contacto Europeo a inicios del siglo XVI. Se evidencia además un incremento en el estado trófico desde ~1930 AP. Este aumento de la productividad está caracterizado por una alta concentración de materia orgánica, bajos índices C/N, alto contenido de carbonatos y Fe, alta abundancia de ostrácodos y presencia de taxones de quironómidos de ambientes productivos como *Chironomus*, *Procladius*, y *Einfeldia* entre 1960 a 2000 AD.

En Abril Ramírez (2011) se analizan los primeros 1.6 m de la perforación 2 de la turbera Llano Grande del páramo de Frontino Antioquia Colombia, (6°29' N; 76°6' O, 3,600 m.s.n m) que cubren los últimos 2,000 años a un intervalo de 2 cm., usando quironómidos, ostrácodos, ácaros, *Hyalela* sp. y otros restos subfósiles. A partir de este estudio se concluye que los restos de macroinvertebrados tienen mejor definición de los cambios ambientales de los cuerpos de agua que el polen. Más adelante, Abril Ramírez et al. (2014) realizan un análisis más exhaustivo de quironómidos fósiles en el mismo sitio de la turbera Llano Grande, colectando un testigo con una edad entre 13,850 a 14,170 años AP. En este estudio se evidencia la presencia de tres fases sedimentológicas tefras, palaeosuelo y mineral, que se vieron acompañadas de cambios en los ensambles de quironómidos. Se observa una fase muy fría, correspondiente a la parte inferior del registro (antes de 13,972 años AP) dominada por los géneros estenotérmicos fríos, *Podonomus*, *Parochlus*, *Diamesa* y *P. araucanus*. La aparición de nuevos géneros y la desaparición de Podonominae y Diamesinae evidencian una extinción local debido a una larga sequía sucedida entre los años 13,800 y 13,972, que duró cerca de 172 años y que fue intensa y persistente. Muchos de los géneros encontrados en el registro, especialmente aquellos pertenecientes a la Familia Podonominae, son nuevos registros fósiles de esta familia para los lagos de la alta montaña del Pleniglacial de Colombia, y complementan la distribución de las subfamilias en las zonas altas de los Andes propuesta por Brundin (1966).

Más recientemente, Wu et al. (2015) realizan el primer estudio paleoecológico cuantitativo al estudiar la relación entre la distribución de quironómidos fósiles y variables limnológicas y ambientales en 51 sitios en Costa Rica. Los análisis

estadísticos indicaron que la temperatura media anual y la conductividad están fuertemente relacionadas con la distribución de los quironómidos, siendo la temperatura la variable que explica la mayor proporción de la varianza en la comunidad de quironómidos. El modelo es robusto ($r^2_{\text{jack}} = 0.94$), RMSEP (1.73 °C) y provee la oportunidad de reconstruir regímenes térmicos en Costa Rica, y potencialmente en otros sitios de Centroamérica.

Sudamérica

Brasil

Andrade-Morrave (1994, 1999) y Andrade-Morrave y Rocha (2001) desarrollan estudios exploratorios paleoecológicos donde utilizan quironómidos fósiles para reconstrucciones ambientales. Sin embargo, la baja resolución taxonómica y la falta de información autoecológica de las especies utilizadas impiden una interpretación confiable de los resultados. Dos de los trabajos mencionados Andrade-Morrave (1999) y Andrade-Morrave y Rocha (2001) analizan los ensamblajes fósiles de quironómidos en la porción superior de un testigo de ca. 60,000 años AP extraído de un lago pantanoso de la Serra dos Carajas al Este de Amazonas (estado de Pará; 61°S). Los resultados muestran un incremento de los restos fósiles después de 2,950 años ^{14}C AP que indicarían un incremento de la humedad del ambiente suficiente para mantener durante todo el año, un ecosistema lacustre estable. En un contexto regional, este trabajo sugiere un incremento de condiciones húmedas durante el Holoceno Tardío en el este de Amazonas, lo cual es consistente con los registros de carbón que registran una reducción en la frecuencia de fuego. En Andrade-Morrave (1994) y también en Andrade-Morrave y Rocha (2001), quironómidos y cladóceros fósiles fueron analizados en secuencias holocenas de dos lagos: Dom Helvecio (6.8 km²; 30 m de profundidad,) y Jacaré (1.03 km², 9.8 m de profundidad) situados en el distrito de los lagos del Rio Dulce Medio, en el bosque seco tropical del SE de Brasil (Estado de Minas Gerais; 20°S). En contraste con lo observado en Amazonas, condiciones húmedas sólo se observan en el Holoceno Medio y luego desaparecen en el Holoceno Tardío. Los autores interpretan la ausencia o baja abundancia de fósiles con un estado de alta humedad que reduciría el hábitat litoral como consecuencia de un aumento en el nivel de las aguas del lago.

Pampas (Argentina)

La región pampeana argentina es un sitio ideal para realizar investigaciones relacionadas con regímenes hídricos ya que posee una amplitud muy marcada de precipitaciones estacionales, lo cual deriva en variaciones de gran magnitud en el nivel de las aguas de los ambientes acuáticos. Recientemente, han comenzado a realizarse en esta zona de la Argentina, estudios paleolimnológicos en base a bioindicadores

sedimentarios (Plastani et al. 2012, 2013; Montes de Oca et al. 2014). En este contexto, se realizó un estudio multidisciplinario de quironómidos, ostrácodos y pigmentos fósiles en un core corto (30cm) para estimar variaciones hidrológicas y de productividad durante el siglo XX en la Laguna Barrancosa (37 °19'S / 60° 06'W) (Plastani et al. 2013). Entre el 1,900 y 1,940 AD se observan lagos temporales con balance negativo de precipitación /evapotranspiración. Entre 1,980 y 1,990 AD, los indicadores biológicos marcan un cambio hacia un ambiente más productivo. Este cambio puede ser atribuido al salto climático ocurrido entre 1,976/1,977 en la región pampeana, lo cual podría haber favorecido el aumento de productividad en los lagos de la región por lavado de nutrientes. Esta tendencia trófica se incrementa a partir de 1,990 AD, hasta la actualidad. En este último período, el lago muestra un ensamble de quironómidos, ostrácodos y pigmentos típico de lagos eutrófico-hipereutrófico oligohalino de carácter permanente asociado al impacto antrópico (Plastani et al. 2013; Montes de Oca et al. 2014)

Patagonia

Entre los 36°- 43° S (Argentina y Chile)

La mayoría de los estudios realizados en América del Sur representan estudios en los cuales se estudian los cambios climáticos que ocurrieron después de la última glaciación, durante el Pleistoceno tardío y el Holoceno. En estos trabajos, realizados en el Parque Nacional Nahuel Huapi en los alrededores de San Carlos de Bariloche, se proponen reconstrucciones del clima pasado, con especial énfasis en el enfriamiento conocido como Younger Dryas (YD), ocurrido en el Hemisferio Norte alrededor de 11,000 años atrás. En el Lago Mascaradi (41° 10'S, 71° 53'O), los quironómidos fósiles ayudaron a descifrar la secuencia y "timing" de las fluctuaciones climáticas postglaciares a esas latitudes de Sudamérica. El reemplazo de los ensambles fríos constituidos por *Parakiefferiella* y *Paratrissocladius* que habitaban en el lago durante el último período glacial (15.2–13.0 ka AP), por los ensambles cálidos, *Chironomus* y *Sergentia/Lenzia*, que aparecen en el intervalo Bølling-Allerød (13,000–11,400 años AP) reflejan un mejoramiento climático y una disminución de aportes glaciares. Estos taxa desaparecen nuevamente después de los 11,400 años AP, lo cual coincide con el comienzo del Younger Dryas. La ausencia de taxones fríos durante el YD sugiere que la temperatura y el régimen de oxígeno del lago no vuelven a las mismas condiciones que las encontradas durante el último máximo glacial. Sin embargo, la combinación de análisis geoquímicos y polen en la misma secuencia evidencia considerable frío en el ambiente terrestre circundante (Ariztegui et al. 1997). El Lago Trébol (41°04'S, 71°30'O), con un área de 0.4 km² se encuentra inmerso en un bosque de *Nothofagus-Austrocedrus* y posee un anillo de macrófitas a lo largo de toda su costa. Un estudio multidisciplinario realizado en los sedimentos posglaciares de este lago muestra que, los cambios en la abundancia de quironómidos y las variaciones en el flujo polínico y la geoquímica están relacionados con fluctuaciones climáticas durante los últimos 14,000 años AP (Bianchi

et al. 1997). El incremento de los quironómidos a los 12,500 años AP, junto con el cambio en la abundancia de materia orgánica, sílice biogénico y nutrientes indican cambios en la productividad como consecuencia del mejoramiento climático asociado a la deglaciación. Estudios posteriores permitieron reconstruir la evolución postglacial del paisaje y la biota en la zona adyacente al lago en base a polen, quironómidos, pigmentos fósiles, metales pesados y tierras raras (Bianchi et al. 1999), proveyendo la base para futuras reconstrucciones climáticas regionales. Cambios y fluctuaciones de todos los proxies muestran aportes alóctonos de materia orgánica y aumentos de productividad, especialmente abundantes durante la transición Pleistoceno/Holoceno, sugiriendo un mejoramiento climático durante este período. Massaferro et al. (2004) revela cambios en la fauna de quironómidos a partir de un testigo corto del lago Morenito (41°03' S - 71°31' O). Este lago constituye un sistema cerrado por acción antropogénica que hasta 1960 formaba parte del lago Moreno Oeste. Debido a la expansión del casco urbano y de la población de Bariloche, este ambiente experimenta actualmente una moderada eutrofización. El trabajo, basado en datos geoquímicos y de ensamblajes de quironómidos, demuestra la respuesta a los cambios ambientales, naturales y antrópicos, durante los últimos 200 años. Los mayores cambios en los ensamblajes de quironómidos se relacionan con el impacto humano, lo que demuestra claramente el potencial de estos insectos como bioindicadores de productividad.

Quizás la secuencia postglacial más larga de Sudamérica donde se estudiaron los quironómidos fósiles fue el testigo del sitio Huelmo (41° 31'S – 73° 00'O) donde Massaferro et al. (2009) realizan una reconstrucción climática desde el Último Máximo Glaciar hasta el presente utilizando polen y quironómidos fósiles. Este trabajo de alta resolución demuestra que en ambos bioproxies responden a cambios del clima y las precipitaciones, en particular periodos fríos/cálidos y secos/ húmedos a lo largo de toda la secuencia sedimentaria (Fig. 3).

Recientemente se ha publicado el primer modelo de reconstrucción de temperatura en base a quironómidos para Patagonia Norte y su aplicación al registro fósil del sitio Huelmo en Chile (41°31' S, 73°00'O) (Massaferro et al. 2014). El modelo es robusto (RMSEP= 1.69 °C, r^2 jack= 0.56) y las inferencias de temperatura concuerdan con trabajos previos realizados en el área, verificándose una reversión climática similar al Younger Dryas, pero de mayor amplitud temporal. La reconstrucción cuantitativa sugiere un calentamiento vinculado a la deglaciación hasta los ~15,000 años AP seguido por condiciones estables hasta los 13,200 años AP, cuando comienza una fase fría que persiste hasta los 11,500 años AP (Fig. 4). Esta reversión climática estaría relacionada con el *Antarctic Cold Reversal* (ACR) y/o con el evento *Huelmo Mascardi Cold Reversal* (HMCR), sugerido por varios autores para la misma latitud (Ariztegui et al. 1997; Bertrand et al. 2008; Hajdas et al. 2003). La terminación de este evento coincide con el comienzo del Holoceno, sugiriendo una simultaneidad interhemisférica de mecanismos climáticos (Pedro et al. 2011).

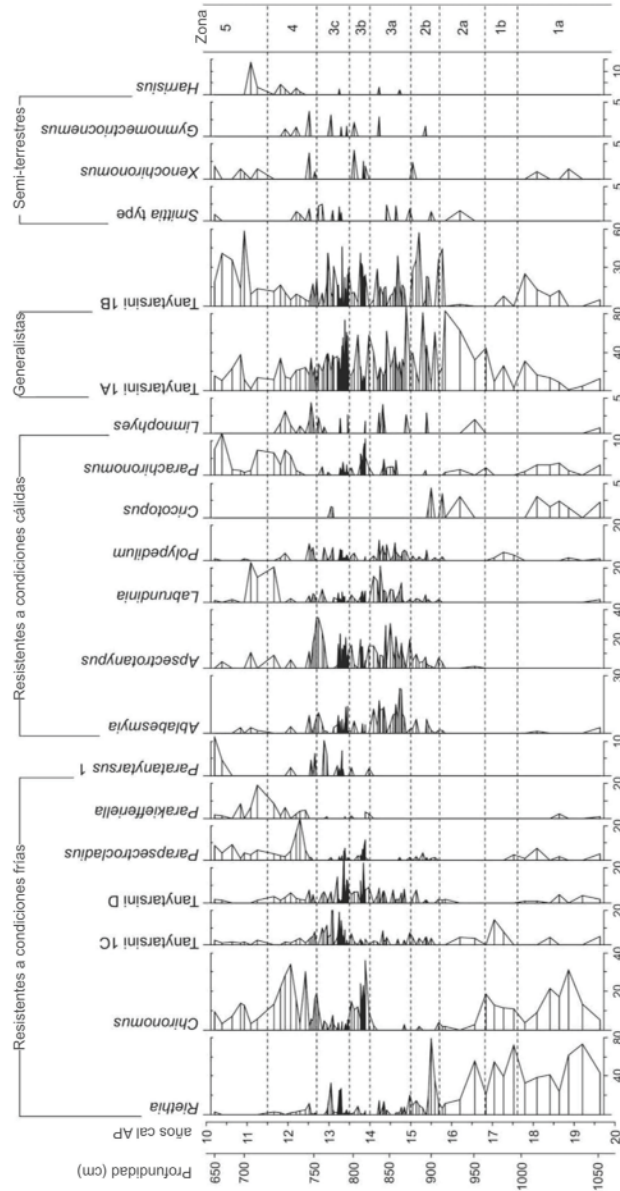


Figura 3. Registro fósil de quironómidos del sitio Huelmo (41° 31' S, 73° 00' O). Se muestran solamente los taxones más representativos (abundancia relativa >5%). Para zonación y significancia de las zonas se usó optimal partitioning y modelo de Brocken-Stick (modificado de Massaferro et al. 2009).

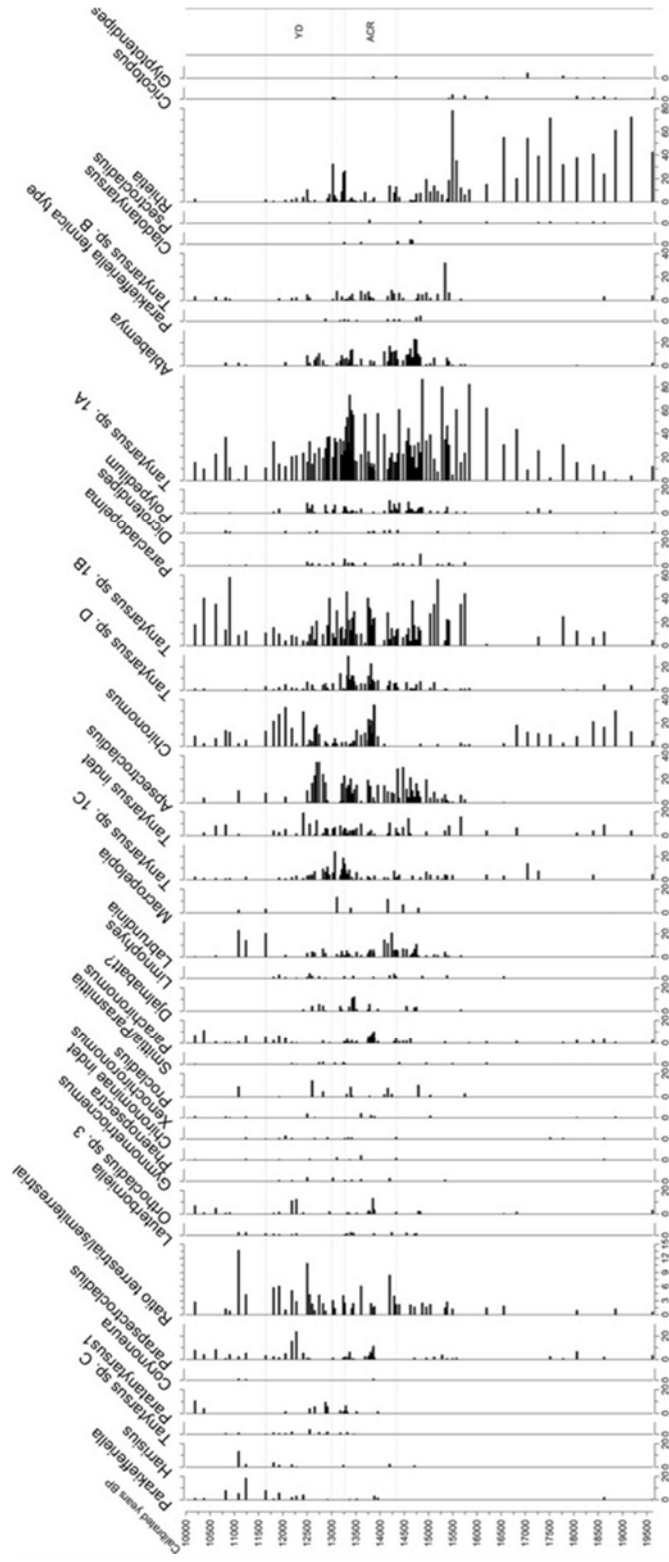


Figura 4. Estratigrafía de quironómidos fósiles en el sitio Huelmo basado en el modelo WAPLS con 2 componentes (incluyendo lagos con al menos 15 cápsulas cefálicas (Rjack = 0.56, RMSEPIjack = 1.69; Max Biasjack = 2.07) (modificado de Massaferro et al. 2014).

En los Andes Chilenos se han realizado varios trabajos multidisciplinarios que involucraron el estudio de quironómidos fósiles. Urrutia et al. (2007), investiga cambios en los ensambles de quironómidos, polen y diatomeas como consecuencia de depositación de tefras o cenizas volcánicas en el Lago Galletue (38° 41'S, 71° 17'O). Todos los proxies biológicos, reflejan cambios en sus comunidades después de la caída de ceniza volcánica. Las diatomeas muestran cambios más fuertes que los demás proxies dado el impacto que producen las tefras en la columna de agua, y también por el corto ciclo de vida de este grupo de organismos que hace que respondan rápidamente al impacto físico de la tefra. En el mismo lago, Araneda et al. (2007), realiza un estudio más específico de los cambios en las asociaciones de quironómidos fósiles a partir del impacto de tefras volcánicas. A pesar que los resultados no muestran cambios significativos en la diversidad de quironómidos, expresada por el índice de Shannon, si se observa un reemplazo de especies en la comunidad de este grupo de insectos en el Lago Galletue.

Posteriormente, Urrutia et al. (2010), analizan un testigo del Lago Laja, (36° 40' S, 71° 50' O) que abarcó los últimos 2,000 años AP. El objetivo del trabajo fue identificar la pequeña edad del hielo (PEH) y la anomalía climática medieval (ACM) en los Andes centrales de Chile a partir de un estudio multiproxy que incluyó diatomeas, polen, quironómidos y variables químicas del sedimento. Los tres bioproxies indicaron la presencia de un evento frío y seco centrado alrededor de 1,550–1,900 AD, coincidente con la PEH en Europa. El polen y los quironómidos fueron más sensitivos a los cambios climáticos, mientras que la respuesta de las diatomeas estuvo asociada a cambios en el nivel de las aguas del lago y/o de productividad. Ninguno de los tres bioindicadores registró el ACM.

Entre los 44° - 49° S (Argentina y Chile)

El primer estudio detallado basado en quironómidos en América del Sur es el de Massaferro y Brooks (2002) que se realizó en el Lago Stibnite (46°25'S, 74°24'O), un lago poco profundo de origen glacial situado en Chile, en una zona mixta de bosque costero dominado por *Nothofagus*. En su secuencia glacial y holocena (17,300 cal yr BP hasta el presente), la estratigrafía de quironómidos muestra una sucesión compleja de cambios en los ensambles faunísticos, difíciles de atribuir a una señal climática local o regional, debido a la complejidad climática del área y la falta de conocimiento sobre la ecología de los quironómidos patagónicos. De esta manera, en Massaferro y Brooks (2002) se presentan inferencias tentativas de condiciones ambientales pasadas mediante el uso de claves y tipología ecológica de los quironómidos del hemisferio Norte. Sin embargo, se presentan además fotografías de taxones locales como una tentativa de comenzar a generar una nueva tipología para la fauna sudamericana.

Durante el último máximo glacial, la fauna de quironómidos del Lago Stibnite estaba dominada por Tanytarsini, los cuales declinan después de 9,500 14C años AP

siendo reemplazados por los Orthoclaadiinae y Tanypodinae. La Tribu Chironomini alcanza abundancias significativas puntualmente antes de 11,300 ¹⁴C años AP y después de 4,500 ¹⁴C años AP. La presencia de ensamblajes estenotérmicos fríos como los Podonominae sugiere reversión climática durante el Younger Dryas (13,000–11,200 años cal AP). Este resultado contrasta con el registro polínico local que no muestra cambios obvios en la vegetación durante el YD (Lumley and Switsur, 1993). Por otra parte, cambios cíclicos en los ensamblajes holocenos de quironómidos del Lago Stibnite fueron interpretados por Massaferro y Brooks (2002) como respuesta a las fluctuaciones a escala milenaria de las precipitaciones asociadas a la actividad de los vientos del Oeste (westerlies).

Veinte kilómetros al Norte del Lago Stibnite, en el Archipiélago de Chonos, se emplaza la Laguna Fácil. Allí se realizó otro estudio, en este caso un estudio polínico Massaferro et al. (2005). Los resultados, sorprendentemente, no mostraron respuesta de los quironómidos a la reversión climática fría del YD. Los quironómidos y la vegetación, parecen responder a cambios ambientales locales y no a cambios regionales, quizás en respuesta a la migración gradual y colonización de árboles en la cuenca del lago. A pesar de la similitud de faunas entre el L. Stibnite y la L. Fácil y la proximidad entre ambos cuerpos de agua, es posible que la L. Fácil contrariamente al L. Stibnite, no haya sido influenciada por avance glaciari o durante el YD (Massaferro y Brooks, 2002).

Respecto de cambios más recientes, una interesante investigación con quironómidos fósiles, fue realizada por Araneda et al. (2013b). En este trabajo se estudian los ensamblajes de quironómidos en testigos cortos de dos lagos en la Patagonia Septentrional: Lago Burgos (45°S 42'O) y Lago Thompson (45°S 38'O) relacionando cambios en las comunidades de quironómidos con ocurrencias de fuego en el área. Los periodos con alta prevalencia de fuego se identificaron a partir de los registros de carbón, mientras que la materia orgánica y la susceptibilidad magnética permitieron confirmar periodos pre y post-fuego. Los ensamblajes de quironómidos fósiles en ambos lagos muestran evidencias de disturbios por fuego durante el siglo XX, atribuidos a los incendios generados en la zona por los colonos. En ambos sitios, los quironómidos responden sensiblemente a los impactos generados por fuego en el bosque, sin embargo, sólo el Lago Burgos registra diferencias entre impactos antes y después del fuego.

En el Lago Thompson sin embargo se registra un cambio de taxa mesotrófica a eutrófica (*C. plumosus*, *C. anthracinus*) en el período post-fuego, reforzando la idea que existió un gran aporte de nutrientes al lago después del evento de fuego. Este estudio muestra que los lagos patagónicos son altamente sensibles al impacto del fuego por actividades antropogénicas (Fig. 5).

Entre los 50° - 54°S (Argentina)

En el extremo sur de la Patagonia, uno de los sitios más intensamente estudiados es la Laguna Potrok Aike (51° 58'S – 70° 23'O, 113 m snm), en el marco del proyecto ICDP PASADO (*Paleo Archives South America Drilling Objective*). Los cambios geoquímicos y en los ensamblajes de quironómidos y diatomeas indican un marcado descenso en el nivel del lago entre los 8,700 y los 7,500 años AP (Massaferro et al. 2013). Esta fase seca regresional se habría extendido hasta los 6,750 años AP, y estaría relacionado a un aumento en la intensidad de los vientos del oeste, que habrían alcanzado en esta región un máximo durante este período. Los avances más significativos y de mayor proyección regional se alcanzaron en los últimos años, al desarrollarse dos modelos de inferencia de temperatura basados en quironómidos. Massaferro y Larocque (2013) desarrollan un modelo de temperatura en base a un set de calibración de 63 lagos de la Patagonia austral ($r^2 = 0.64$ y error predictivo RMSEP= 0.83) y lo aplicaron a la interpretación de un testigo de la Laguna Potrok Aike. Las temperaturas del aire inferidas a partir de los quironómidos fueron más frías que el promedio alcanzado durante la transición glacial-postglacial (10.8°C) llegando a un mínimo absoluto (9°C) durante el *Antarctic Cold Reversal* (ACR). Entre los 8,000–3,000 años AP, la temperatura estimada fue más cálida, con una tendencia a disminuir hacia el Holoceno tardío. La diferencia entre la temperatura del aire inferida por los quironómidos y los datos instrumentales de la temperatura media entre el 1961 y 1990 fue de 0.6°C, lo cual sugiere que los quironómidos son suficientemente sensitivos para reconstruir cuantitativamente la temperatura media del aire en el lago Potrok Aike. Adicionalmente, se efectuaron estudios de alta resolución obtenidos a partir de testigos sedimentarios de la Laguna Azul (52°05'S - 63°35'O). Los ensamblajes de quironómidos incluyen un alto porcentaje de especies criófilas estenotérmicas en el período 1550-1840 AD, reflejando claramente temperaturas compatibles con la PEH (Martin et al. 2014a, b), la última expresión del avance Neoglacial del Holoceno aparentemente global acontecido entre el siglo XVI y mediados del siglo XIX. Este trabajo significa el primer registro de la PEH a partir de quironómidos en el extremo sur de Sudamérica.

5. Perspectivas a futuro

Los avances en paleoecología de quironómidos durante las últimas dos décadas han sido particularmente sorprendentes. Actualmente, este bioproxy es utilizado en casi todo el mundo como indicador independiente de condiciones ambientales pasadas y, combinado con otros proxies sedimentarios, es una herramienta importante y decisiva para establecer inferencias climáticas. En la región Neotropical, los estudios cuali- y cuantitativos de quironómidos están aumentando de manera exponencial. Si bien, aún hay discontinuidades en cuanto a las regiones estudiadas, por ejemplo, se cuenta con mucha información en la región sur de Sudamérica, especialmente en Patagonia, pero no hay ningún trabajo publicado en el Norte de América del Sur, excepto aislados

estudios en Colombia y Brasil. Una de las razones que explica la inexistencia de trabajos en más de la mitad del continente centro y sudamericano se debe a la falta de conocimiento taxonómico del grupo. Concretamente, hacen falta más trabajos sobre la sistemática y autoecología de este grupo de insectos dípteros. Si bien se están realizando trabajos puramente taxonómicos, al menos en Sudamérica, estos no son suficientes debido a la escasez de claves regionales, la falta de entomólogos taxónomos dispuestos a describir especies hasta incluso géneros, y por lo tanto se estima que hay cientos de géneros y especies por describir. La falta de resolución taxonómica dificulta los estudios paleoecológicos: una inadecuada identificación produce una interpretación errónea. Por otro lado, es necesario conocer la biología del grupo, en cuanto a ecología, tipo de hábitat, tipo de alimento, etc. para entender los límites de las reconstrucciones ambientales en base a quironómidos. Una vez logrados estos objetivos, seguramente se incrementarían los trabajos paleoecológicos en distintas áreas de la región Neotropical que permanecen aun vírgenes en el tema.

6. Agradecimientos

Al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IA101515, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG 671), Technische Universität Braunschweig, Alemania, CONICET, CENAC/APN, Centro EULA-Chile y al proyecto de cooperación bilateral México – Argentina CONACYT-CONICET-proyecto CONACYT 190519 y CONACYT 252148.

7. Referencias bibliográficas

- Abril Ramirez G. 2011. Paleoentomología con invertebrados acuáticos del ecosistema paramuno. Memorias 38º Congreso Sociedad Colombiana de Entomología SOCOLEN Manizales, Colombia, 89-102 pp.
- Abril Ramírez G., Monsalve Marín C.A., Parra Sánchez L.N. 2014. Paleoentomología: Los insectos fósiles (Diptera: Chironomidae) como herramienta en reconstrucciones paleoambientales del Tardiglacial en Colombia. 41º Congreso Sociedad Colombiana de Entomología SOCOLEN Cali, Colombia 27-44 pp.
- Andrade-Morrave M. 1994. Paleolimnological studies in Rio Doce Valley lakes (Minas Gerais, Brazil): animal remains in the sediments of lakes Dom Helvecio and Jacare. Unpublished M.Sc. Thesis, Federal University of Sao Carlos, Sao Paulo, Brazil, 88pp.
- Andrade-Morrave M. 1999. Cladocera (Crustacea) and Chironomidae (Diptera) remains as paleolimnological and paleoclimatic indicators for the Quaternary lacustrine deposit of Serra dos Carajas (Para, Brazil) and Lake Vico (Latium, Italy). Unpublished Ph.D. Thesis, Federal University of Sao Carlos, Sao Paulo, Brazil, 201pp.
- Andrade-Morrave M., Rocha O. 2001. Invertebrate remains as indicators of Holocene lake-level changes in Brazil. Actas da V reuniao do Quaternario Iberico, Lissabon (Portugal), 386–389 pp.
- Araneda A., Cruces F., Torres L., Bertrand S., Fagel N., Treutler H.C., Urrutia, R. 2007. Cambios en las asociaciones sub-fósiles de quironómidos, producto de la

- deposición de sedimentos volcánicos en un lago andino (38°S), Chile. *Revista chilena de historia natural*, 80(2), 141-156.
- Araneda, A., Larocque-Tobler I., Grosjean M., Torrejón F., Jana-Pinninhoff P., Ortega C., Urrutia R. 2013a. Developing a quantitative reconstruction of temperature in Southern Chile for the last millennium base on midge assemblages. 12th International Workshop of Subfossil Chironomidae, New Forest, UK, 10-13.
- Araneda, A., Jana P., Ortega C., Torrejón F., Bertrand S., Vargas P., Fagel N., Alvarez D., Stehr A., Urrutia R. 2013b. Changes in sub-fossil chironomid assemblages in two Northern Patagonian lake systems associated with the occurrence of historical fires. *Journal of Paleolimnology* 50(1): 41-56.
- Ariztegui D., Bianchi M.M., Masferro J., Lafargue E., Niessen F. 1997. Interhemispheric synchrony of Late glacial climatic instability as recorded in proglacial Lake Mascardi, Argentina. *Journal of Quaternary Science*, 12 (4), 333-338.
- Armitage P.D., Cranston, P., Pinder L.C. (Eds.). 1995. *The Chironomidae: biology and ecology of non-biting midges*. Springer.
- Ashe P., D.A. Murray D.A., Reiss F. 1987. The zoogeographical distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera). *Annales de Limnologie*. Vol. 23. No. 01. EDP Sciences.
- Ashley M.C., Robinson J.A., Oring L.W, Vinyard G.A. 2000. Dipteran standing stock biomass and effects of aquatic bird predation at a constructed wetland. *Wetlands*. Vol 20, Num. 1, 84-90.
- Battarbee R. W. 2000. Palaeolimnological approaches to climate change, with special regard to the biological record. *Quaternary Science Reviews*, 19(1), 107-124.
- Bertrand S., Charlet F., Charlier B., Renson V., Fagel N. 2008. Climate variability of southern Chile since the Last Glacial Maximum: a continuous sedimentological record from Lago Puyehue (40 S). *Journal of Paleolimnology*, 39 (2), 179-195.
- Bianchi M.M., Masferro J., Roman Ross G., del Valle R., Tatur A., Amos A.J. 1997. The Pleistocene-Holocene boundary from cores of Lago El Trebol, Patagonia, Argentina: paleolimnological evidences. *Verhandlungen-Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, 26, 805-808.
- Bianchi M.M. 1999. Registros polínicos de la transición Glacial-Post-glacial en el Parque Nacional Nahuel Huapi, noroeste de Patagonia, Argentina. In 10° Simposio Argentino de Palinología (Vol. 6). Asociación Paleontológica Argentina.
- Binford M.W. 1982. Ecological history of Lake Valencia, Venezuela: interpretation of animal microfossils and some chemical, physical and geological features. *Ecological Monographs* 52, 307-333.
- Brooks S.J., Matthews I. P., Birks H.H. Birks H.J.B. 2012. High resolution Lateglacial and early-Holocene summer air temperature records from Scotland inferred from chironomid assemblages. *Quaternary Science Reviews*, 41, 67-82.
- Brooks S.J., Langdon P.G., Heiri O. 2007. Using and identifying chironomid larvae in palaeoecology, QRA Technical Guide No 10. Quaternary Research Association, London
- Brundin L. 1966. Transantarctic relationships and their significance, as evidenced by chironomid midges with a monograph of the subfamilies Podonominae and Aphroteniinae and the austral Heptagyiidae.-K Sven Vetenskapsakad Handl 11:1-472.
- Butler M. G. 1982. A 7-year life cycle for two *Chironomus* species in arctic Alaskan tundra ponds (Diptera: Chironomidae). *Canadian Journal of Zoology* 60:58-70.

- Corley J.C., Massaferro J.I. 1998. Long-term turnover of a fossil community of chironomids (Diptera) from Lake Mascaridi (Patagonia, Argentina). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 407-413.
- Cranston P.S. 1995. Morphology of Chironomidae. In: Armitage, P., Cranston, P. y Pinder, L.V. (eds), *The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges*, 11–30. Chapman and Hall, London.
- Cranston P.S., Martin, J. 1989. 26. Family Chironomidae. *Catalog of the Diptera of the Australasian and Oceanic Region*. Bishop Mus. Spec. publ, 86, 252-274.
- Cuello M.E., Úbeda C., Bello M.T., Kun M. 2009. Seasonal trophic activities of the aquatic morphotype of *Atelognatus patagonicus* (Anura Neobatrachia) and prey availability in the littoral benthos of a permanent pond in Argentinean Patagonia. *Phyllomedusa* 8(2): 135-146.
- Donato M., Massaferro J., Brooks S.J. 2008. Chironomid (Chironomidae: Diptera) checklist from Nahuel Huapi National Park, Patagonia, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 67(1-2), 163-170.
- Donato M., Massaferro J., Brooks S.J. 2009. Estado del conocimiento taxonómico de la fauna de Chironomidae (Diptera: Nematocera) de la Patagonia. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 68(1-2), 187-192.
- Donato, M. 2011. A new species of the genus *Mesosmittia* Brundin, 1956 (Diptera: Chironomidae) from the Neotropics with a cladistic analysis of the genus using quantitative characters. *Zootaxa*, 2836, 51-61.
- Edwards F.W. 1931. *Diptera of Patagonia and South Chile*. Part II. Fascicle 5. - Chironomidae, pp. 233-331. Trustees of the British Museum, London.
- Eggermont H., Heiri O. 2012. The chironomid temperature relationship: expression in nature and palaeoenvironmental implications. *Biological Reviews*, 87 (2), 430-456.
- Epler J.H. 1995. *Identification Manual for the Larval Chironomidae (Diptera) of Florida*. Revised edition. Florida Dept. Environmental Protection, Tallahassee, FL. 317 pp.
- Ferrington L.C. 2008. Global diversity of non-biting midges (Chironomidae; Insecta-Diptera) in freshwater. *Freshwater Animal Diversity Assessment* (pp. 447-455). Springer Netherlands.
- Fittkau E.J. 1971. Distribution and ecology of Amazonian chironomids (Diptera). *The Canadian Entomologist*, 103 (03), 407-413.
- Fjellheim A., Raddum G. G., Vandvik V., Cogalniceanu D., Boggero A., Brancelj A., Stuchlik E. 2009. Diversity and distribution patterns of benthic invertebrates along alpine gradients. A study of remote European freshwater lakes. *Advances in Limnology* (62)167-190.
- Frey D.G. 1964. Remains of animals in Quaternary lake and bog sediments and their interpretation. *Adv Limnol* 2:1–114.
- García P.E., Añón Suárez D. A. 2007. Community structure and phenology of chironomids (Insecta: Chironomidae) in a Patagonian Andean stream. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters* 37.1: 109-117.
- Hamerlik L., Jacobsen D. 2012. "Chironomid (Diptera) distribution and diversity in Tibetan streams with different glacial influence." *Insect Conservation and Diversity* 5.4: 319-326.
- Hajdas I., Bonani G., Moreno P. I., Ariztegui, D. 2003. Precise radiocarbon dating of Late-Glacial cooling in mid-latitude South America. *Quaternary Research*, 59(1), 70-78.

- Heiri O., Lotter, A.F., Hausmann, S., Kienast F. (2003) A chironomid-based Holocene summer air temperature reconstruction from the Swiss Alps. *The Holocene* 13 (4), 477-484.
- Heiri O., Lotter, F., Hausmann, S., Kienast, F., Utrecht, N.-C. D. (2003). A chironomid-based Holocene summer air temperature reconstruction from the Swiss Alps, 4, 477–484.
- Hirabayashi K., Wotton R.S. 1998. Organic matter processing by chironomid larvae (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia* 382, 151–159.
- Jones R.I., Grey, J. 2004. Stable isotope analysis of chironomid larvae from some Finnish forest lakes indicates dietary contribution from biogenic methane. *Boreal Environ. Res.* 9, 17–23.
- Kohshima Shiro. 1984. A novel cold-tolerant insect found in a Himalayan glacier. *Nature* 310, 225 – 227.
- Juncos R., Milano D., Macchi P.J., Alonso M.F., Vigliano P.H. 2011. Response of rainbow trout to different food web structures in Northern Patagonia: implications for growth, bioenergetics, and invasiveness. *Transactions of the American Fisheries Society*, 140: 2, 415-428.
- Knight T.M., McCoy W.M., Chase J.M., McCoy K.A., Holt R.D. 2005. Trophic cascades across ecosystems. *Letter. Nature* 1 Vol 437|6.
- Langdon P.G., Ruiz Z., Brodersen K.P., Foster I.D.L. 2006. Assessing lake eutrophication using chironomids: understanding the nature of community response in different lake types. *Freshwater Biology* 51(3), 562-577.
- Larocque I., Hall R. I., Grahn E. 2001. Chironomids as indicators of climate change: a 100lake training set from a subarctic region of northern Sweden (Lapland). *Journal of Paleolimnology*, 26(3), 307-322.
- Larocque I., Hall, R.I. 2003. Chironomids as quantitative indicators of mean July air temperature: validation by comparison with century-long meteorological records from northern Sweden. *Journal of Paleolimnology* 29 (4), 475-493.
- Levesque A., Mayle F. E., Walker I. R., Cwynar L. C. 1993. The Amphi-Atlantic Oscillation: A proposed late-glacial climatic event: A contribution to the 'North Atlantic seaboard programme' of IGCP-253 'Termination of the Pleistocene'. *Quaternary Science Reviews*, 12(8), 629-643.
- Lindegaard C. 1997. Diptera chironomidae, non-biting midges. *Aquatic Insects of north Europe*, 2, 265-294.
- Lotter A.F., Birks H. J. B., Hofmann W., Marchetto A. 1997. Modern diatom, cladocera, chironomid, and chrysophyte cyst assemblages as quantitative indicators for the reconstruction of past environmental conditions in the Alps. I. Climate. *Journal of Paleolimnology*, 18(4), 395-420.
- Lumley S.H., Switsur R. 1993. Late quaternary chronology of the Taitao Peninsula, southern Chile. *Journal of Quaternary Science*, 8(2), 161-165.
- Martín R., Massaferro J., Ramón Mercau J., Lücke A., Mayr C., Laprida C. 2014a. Chironomid record from the Little Ice Age in Laguna Azul, Southern Patagonia (Argentina). 4th International Paleontological Congress, Mendoza, Resumen on line.
- Martín R., Ramón Mercau J., Massaferro J., Montes de Oca F., y Laprida C. 2014b. Modern chironomid (Insecta: Diptera) distribution in Southern Patagonia (Santa cruz, Argentina). CAL 2014, 6to Congreso Argentino de Limnología, La Plata.

- Marziali L., Rossaro B. 2013. Response of chironomid species (Diptera, Chironomidae) to water temperature: effects on species distribution in specific habitats. *Journal of Entomological and Acarological Research*, 45(2), 14.
- Massaferro J., Corley J. 1998. Environmental disturbance and chironomid palaeodiversity: 15 kyr BP of history at Lake Mascardi, Patagonia, Argentina. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*, 8(3), 315-323.
- Massaferro J., Brooks S.J. 2002. Response of chironomids to Late Quaternary environmental change in the Taitao Peninsula, southern Chile. *Journal of Quaternary Science*, 17(2), 101-111.
- Massaferro J., Ribeiro Guevara S., Rizzo A., Arribere M. 2004. Short term environmental changes in Lake Morenito (41°S, Patagonia, Argentina) from the analysis of subfossilchironomids. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 14:123–134.
- Massaferro J., Brooks S.J., Haberle S.G. 2005. The dynamics of chironomid assemblages and vegetation during the Late Quaternary at Laguna Facil, Chonos Archipelago, southern Chile. *Quaternary Science Reviews*, 24(23), 2510-2522.
- Massaferro J., Vandergoes M. 2007. Postglacial Chironomid records from Australia, NewZealand and South America. *Encyclopedia of Quaternary Sciences*. Elsevier, MS, 287, 398-409.
- Massaferro J., Moreno P.I., Denton G.H., Vandergoes M., Dieffenbacher-Krall A. 2009. Chironomid and pollen evidence for climate fluctuations Turing the Last Glacial Termination in NW Patagonia. *Quaternary Science Reviews* 28:517–525.
- Massaferro J., Larocque-Tobler I. 2013. Using a newly developed chironomid transfer function for reconstructing mean annual air temperature at Lake Potrok Aike, Patagonia, Argentina. *Ecological Indicators*, 24, 201-210.
- Massaferro J., Vandergoes M. 2013. Postglacial Southern Hemisphere. In: Elias S.A. (ed.) *The Encyclopedia of Quaternary Science*, vol. 1, pp. 398-405. Amsterdam: Elsevier.
- Massaferro J., Larocque-Tobler I., Brooks S. J., Vandergoes M., Dieffenbacher-Krall A., Moreno P. 2014. Quantifying climate change in Huelmo mire (Chile, Northwestern Patagonia) during the Last Glacial Termination using a newly developed chironomid-based temperature model. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 399, 214-224.
- Montes de Oca F., Serra M.N., Motta L., Massaferro J. 2014. Estructura de los ensambles de quironómidos subfósiles del Parque Nacional Nahuel Huapi. *Congreso Argentino de Limnología (CAL 6)*, La Plata, Argentina.
- Nolte U. 1989. Observations on neotropical rainpools (Bolivia) with emphasis on Chironomidae (Diptera). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 24(3), 105-120.
- Olander H., Korhola A., Blom T. 1997. Surface sediment Chironomidae (Insecta: Diptera) distributions along an ecotonal transect in subarctic Fennoscandia: developing a tool for palaeotemperature reconstructions. *Journal of Paleolimnology*, 18(1), 45-59.
- Olander H., Birks H.J.B., Korhola A., Blom T. 1999. An expanded calibration model for inferring lakewater and air temperatures from fossil chironomid assemblages in northern Fennoscandia. *The Holocene*, 9(3), 279-294.

- Paggi A. 2002. Diptera: Chironomidae. En: H.R. Fernández y E. Domínguezm (Eds). Guía para la determinación de los artrópodos bentónicos sudamericanos. Serie Investigaciones de la UNT, Ciencias exactas y naturales. 167-193.
- Paggi A.C. 2009. Diptera Chironomidae. Cap. 13. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología. E. Domínguez, H. R. Fernández (Eds). p. 383-409.
- Palomaki R. 1987. The Chironomidae of some lakes and rivers in Nicaragua. *Entomologica Scandinavica*, 45-49.
- Pedro J.B., Van Ommen, T.D., Rasmussen, S.O., Morgan, V.I., Chappellaz, J., Moy, A.D., Masson-Delmotte, V., M. Delmotte, 2011. The last deglaciation: timing the bipolar seesaw. *Climate of the Past Discussions*, 7, 397-430.
- Pérez L., Bugja R., Massaferro J., Steeb P., van Geldern R., Frenzel P., Schwalb A. 2010. Post-Columbian environmental history of Lago Petén Itzá, Guatemala. *Rev. Mex. Cienc. Geol*, 27, 490-507.
- Pérez L., Lorenschat J., Schwalb A., Scharf B., Massaferro J. Bioindicators of climate and trophic state in aquatic ecosystems of the northern Neotropics . 2013 .*Rev. Biol. Tropical*, 62, 603-644
- Péry A.R., Mons R., Garric J. 2004. Energy-based modelling to study population growth rate and production for the midge *Chironomus riparius* in ecotoxicological risk assessment. *Ecotoxicology* 13, 647-656.
- Pinder L. C. V. 1986. Biology of freshwater Chironomidae. *Annual Review of Entomology*, 31(1), 1-23.
- Plastani M.S., Laprida C., Massaferro J., Lami A. 2012. Late holocene environmental history of a shallow pampean lake based on fossil pigments and ostracods. Reunión anual de comunicaciones de la asociación paleontológica, Gral. Roca, Argentina.
- Plastani M.S., Laprida C., Ramón Mercau M.J., Massaferro J., Lami A. 2013. Hydrological changes in a small lake at the pampean region of the south american central plains (Argentina) during the last centuries. 17th International Symposium on Ostracoda. *Il Naturalista Siciliano*, volumen XXXVII, N°1: 297-298. Roma, Italia.
- Porinchu D.F., MacDonald G.M. 2003. The use and application of freshwater midges (Chironomidae: Insecta: Diptera) in geographical research. *Progress in Physical Geography* 27, 3, 378-422.
- Porinchu D.F., Potito A. P., MacDonald G. M., Bloom A. M. 2007. Subfossil Chironomids As Indicators Of Recent Climate Change In Sierra Nevada, California, Lakes. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 39(2), 286-296.
- Quinlan R., Smol J. P. 2001. Chironomid based inference models for estimating end of summer hypolimnetic oxygen from south central Ontario shield lakes. *Freshwater Biology*, 46(11), 1529-1551.
- Ramirez A. 2010. Capítulo 2: Métodos de recolección. *Rev. Biol. Trop* [online]. Vol.58, suppl.4, pp. 41-50. ISSN 0034-7744.
- Raunio J., Heino J., Paasivirta L. 2011. Non-biting midges in biodiversity conservation and environmental assessment: findings from boreal freshwater ecosystems. *Ecological Indicators*, 11(5), 1057-1064.
- Reiss F. 1972. Die Tanytarsini (Chironomidae, Diptera) Südchiles und Westpatagoniens. mit hinweisen auf die tanytarsini Fauna der neotropis. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 7(1), 49-94.

- Roback S.S., Coffman W.P. 1983. Results of the Catherwood Bolivian-Peruvian Altiplano Expedition Part II. Aquatic Diptera including Montane Diamesinae and Orthoclaadiinae (Chironomidae) from Venezuela. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 9-79.
- Rossaro B., Lencioni V., Boggero A., Marziali L. 2006. Chironomids from Southern Alpine Running Waters: Ecology, Biogeography*. *Hydrobiologia*, 562(1), 231-246.
- Ruiz-Moreno, J.L., Ospina-Torres, R., Riss, W. 2000. Guía para la identificación genérica de larvas de Quironómidos (Diptera Chironomidae) de la sabana de Bogotá. II Subfamilia Chironominae. *Caldasia* 22 (1): 15-33
- Sæther O. A. 1979. Hierarchy of the Chironomidae with emphasis on the female genitalia (Diptera). *Entomologica scandinavica Supplement 10*: 17-26.
- Thienemann, A. 1922. Die Bieden Chironomusarten der tiefenfauna der norddeutschen Seen. *Arch .Hydrobiol.* 13:609-646.
- Smith J.N., Walton A. 1980. Sediment accumulation rates and geochronologies measured in the Saguenay Fjord using the Pb-210 dating method. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44(2), 225-240.
- Smol, J.P., Birks, H.J.B., Last, W.M. (2002). Tracking environmental change using lake sediments. Volume 4: Zoological indicators. Springer.
- Spies M., Reiss F. 1996. Catalog and bibliography of neotropical and Mexican Chironomidae (Insecta, Diptera). *Spixiana Suppl* 22: 61-119.
- Spies M., Andersen T., Epler J. H., Watson J. C. N. 2009. Chironomidae (Non-biting midges). *Manual of Central American Diptera (BV Brown, A. Borkent, JM Cumming, DM Wood, NE Woodley, MA Zumbado, eds.)*. NRC Research Press, Ottawa, 437-480.
- Thienemann A. 1922. Die Bieden Chironomusarten der tiefenfauna der norddeutschen Seen. *Arch Hydrobiol.* 13:609-646.
- Urrutia R., Araneda A., Cruces F., Torres L., Chirinos L., Treutler H. C., Chapron E. 2007. Changes in diatom, pollen, and chironomid assemblages in response to a recent volcanic event in Lake Galletué (Chilean Andes). *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters*, 37(1), 49-62.
- Urrutia R., Araneda A., Torres L., Cruces F., Vivero C., Torrejón F., Scharf B. 2010. Late Holocene environmental changes inferred from diatom, chironomid, and pollen assemblages in an Andean lake in Central Chile, Lake Laja (36° S). *Hydrobiologia*, 648(1), 207-225.
- Vinogradova E.M., Riss, H.W. (2007). Chironomids of the Yucatán Peninsula. *CHIRONOMUS Newsletter on Chironomidae Research*, (20).
- Walker I.R. 1987. Chironomidae (Diptera) in Paleoecology. *Quaternary Science Reviews* 6: 29-40.
- Walker I.R., Mathewes R. W. 1989. Chironomidae (Diptera) remains in surficial lake sediments from the Canadian Cordillera: analysis of the fauna across an altitudinal gradient. *Journal of Paleolimnology*, 2(1), 61-80.
- Walker I.R. 1990. Modern assemblages of arctic and alpine Chironomidae as analogues for late-glacial communities. In *Environmental History and Palaeolimnology* (pp. 223-227). Springer Netherlands.
- Walker I.R., Smol J.P., Engstrom D.R., Birks H.J.B. 1991. An assessment of Chironomidae as quantitative indicators of past climatic change. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(6), 975-987.

- Walker I.R., Oliver D.R., Dillon M.E. 1992. The larva and habitat of *Parakiefferiella nigra* Brundin (Diptera: Chironomidae). *Netherland Journal of Aquatic Ecology*, 26(2-4), 527-531.
- Walker I.R., Reavie E.D., Palmer S., Nordin R.N. 1993. A palaeoenvironmental assessment of human impact on Wood Lake, okanagan valley, British Columbia, Canada. *Quaternary International*, 20, 51-70.
- Wesner J.S. 2010. Seasonal variation in the trophic structure of a spatial prey subsidy linking aquatic and terrestrial food webs: adult aquatic insects. *Oikos* 119: 170 - 178.
- Wiederholm T. (ed.). 1983. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part 1. Larvae. *Entomologica Scandinavica Suppl* 19, 1–457.
- Williner V. 2007. Ecología trófica de poblaciones de especies de la familia Aeglidae en la Argentina. Tesis Doctoral, U.N.L.P. Director: Dr. Juan Alberto Schnack.
- Wu J., Porinchu D.F., Horn S.P., Haberyan K.A. 2015. The modern distribution of chironomid sub-fossils (Insecta: Diptera) in Costa Rica and the development of a regional chironomid-based temperature inference model. *Hydrobiologia*, 742(1), 107-127.

Capítulo 10: Mollusca

Denisse Álvarez Sanhueza, Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás, Concepción, Chile, dealvarez@udec.cl

Claudio G. De Francesco, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), CONICET-Universidad Nacional de Mar del Plata, Juan B. Justo 2550 1ºPiso, 7600, Mar del Plata, Argentina, cgdefra@mdp.edu.ar

Palabras clave: Gasterópodos, Bivalvos, Cuaternario, $\delta^{18}\text{O}$.

1. Introducción

Los moluscos (Phylum Mollusca) se encuentran entre los bioindicadores macroscópicos más comúnmente hallados en los sedimentos continentales cuaternarios. Están representados exclusivamente por las clases Gastropoda (caracoles, babosas) y Bivalvia (almejas, mejillones). La fauna dulceacuícola neotropical está representada por al menos 14 familias de gasterópodos, (Strong et al. 2008) y por aproximadamente 10 familias de bivalvos (Bogan 2008). Habitan casi todo tipo de ambientes acuáticos como ríos, arroyos, canales, manantiales, cascadas, lagos, esteros y pantanos. La mayoría de las especies fósiles corresponden a especies que se encuentran en la actualidad, lo que permite una aproximación uniformitarianista directa para inferir paleoambientes.

Los moluscos cuaternarios fueron utilizados en todo el mundo para reconstruir ambientes locales y condiciones climáticas en combinación con otros registros biológicos y sedimentológicos. Dado que proveen información sobre la dinámica hidrológica de los cuerpos de agua, resultando potencialmente útiles como bioindicadores paleoambientales (De Francesco 2013). Un gran número de estudios se focalizó en el análisis de los isótopos estables ($\delta^{18}\text{O}$ y $\delta^{13}\text{C}$) presentes en las valvas como un mecanismo indirecto para inferir temperaturas, procesos de evaporación y niveles de productividad (Bonadonna et al. 1999; Leng et al. 1999; Jones et al. 2002; De Francesco y Hassan 2013; Álvarez et al. 2015). Más recientemente han comenzado a usarse para comprender los procesos de fosilización en aguas continentales (tafonomía) para lo cual se ha llevado adelante estudios de tafonomía actualista (Brown et al. 2005; Kotzian y Simões 2006; Martello et al. 2006; Cristini y De Francesco 2012; Tietze y De Francesco 2012, 2014).

En la zona neotropical el conocimiento sobre la malacofauna acuática continental fósil es fragmentario, debido a que las investigaciones desarrolladas con anterioridad al presente siglo se han limitado en su mayoría a hacer mención de especies en localidades discretas, sin una visión integradora que permita comprender el origen y los patrones de diversificación de las especies durante el Cenozoico (véase del Río et al. 2007 para una síntesis del estado del conocimiento). Además, dentro de los

escasos estudios que se han llevado adelante existe un sesgo importante hacia los depósitos aluviales (e.g., Prieto et al. 2004; De Francesco et al. 2007) siendo escasos los estudios desarrollados sobre moluscos cuaternarios en sedimentos lacustres (De Francesco et al. 2013).

El objetivo de este capítulo es realizar una síntesis de las principales líneas de investigación desarrolladas en América Latina, en relación a la reconstrucción paleoambiental y paleoclimática basada en moluscos lacustres.

2. Biología

Los moluscos se caracterizan por presentar una concha externa de carbonato de calcio compuesta por una (gasterópodos) o dos piezas (bivalvos), que es generalmente la única estructura que se preserva en el registro fósil. Por lo tanto, la identificación taxonómica se realiza a partir de los caracteres diagnósticos presentes en la concha (Figura 1). Esto resulta confiable sólo en casos donde existe una relativa estabilidad morfológica, mientras que se vuelve muy dificultoso en aquellos casos en que las conchas exhiben convergencia morfológica entre distintas especies y plasticidad fenotípica, como por ejemplo los caracoles de la superfamilia Rissoidae (De Francesco 2007).

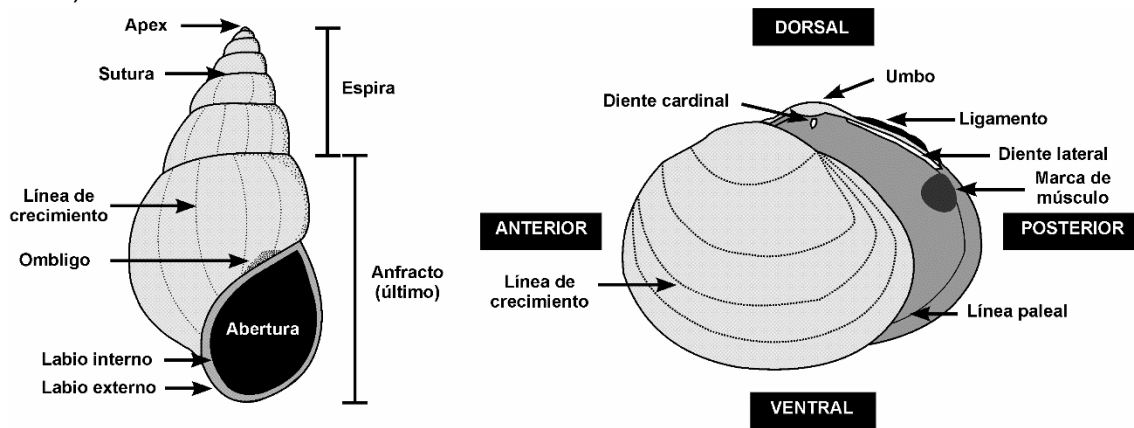


Figura 1. Características morfológicas de las conchas de gasterópodos (izquierda) y bivalvos (derecha). Modificado de De Francesco (2013).

Diversidad y Taxonomía

La taxonomía de los moluscos dulceacuícolas se halla al presente siendo revisada sustancialmente a nivel mundial, debido a la incorporación de nuevos caracteres anatómicos, ultraestructurales y moleculares (véase Bouchet y Rocroi 2005). Además de esta situación, en América Latina existe escasa información para muchas regiones, lo que vuelve la actualización del conocimiento taxonómico aún más complicada.

En la región neotropical los bivalvos están representados por un total de 9 familias, 52 géneros y 226 especies, incluidos en tres subclases: Pteriomorpha, Paleoheterodonta y Heterodonta (Tabla 1). La subclase Pteriomorpha solamente está representada por una especie exótica, el mejillón dorado *Limnoperna fortunei*, que ha invadido recientemente diferentes áreas de América Latina, causando importantes problemas ecológicos y ambientales (Darrigran y Pastorino 2004). La subclase Paleoheterodonta incluye el orden Unioniformes, uno de los grupos con mayores radiaciones en agua dulce, estando representado por las familias Hyriidae (con 9 géneros), Mycetopodidae (12 géneros) y Unionidae (20 géneros), estos últimos, constituidos por especies exóticas. Los bivalvos de las familias Hyriidae, Mycetopodidae y Sphaeriidae dan cuenta de la mayoría de la diversidad faunística autóctona de América Latina (con un total de 135 especies) (Bogan 2008).

Tabla 1. Clasificación taxonómica y número de géneros y especies de bivalvos presentes en ambientes dulceacuícolas de la región neotropical. Datos tomados de Bogan (2008), Rumi et al. (2008) y De Francesco (2013). *indica taxa exóticos.

Clase	Subclase	Orden	Familia	Géneros/ Especies	Ejemplos		
Bivalvia	Pteriomorpha	Mytiloidea	Mytilidae*	1/1	<i>Limnoperna fortunei</i>		
			Paleoheterodonta	Unioniformes	Hyriidae	9/55	<i>Diplodon chilensis</i>
					Mycetopodidae	12/39	<i>Anodontites trapesialis</i>
	Heterodonta	Veneroidea	Unionidae*	20/85	<i>Elliptio complanata</i>		
			Corbiculidae*	2/2	<i>Corbicula fluminea</i>		
			Sphaeriidae	5/41	<i>Musculium argentinum</i>		
		Myoidea	Erodonidae	Erodonidae	1/1	<i>Erodona mactroides</i>	
				Teridinidae	1/1	<i>Nausitora dunlopei</i>	
				Lyonsiidae	1/1	<i>Anticorbula fluviatilis</i>	

Por su parte, los gasterópodos neotropicales, con una diversidad mayor que la de los bivalvos (Tabla 2), están dominados por dos clados principales, que son los Caenogastropoda y los Heterobranchia (Bouchet y Rocroi 2005). También hay algunos representantes (~10 especies) de la familia Neritidae (dentro del clado de los Neritimorpha) que fueron previamente incluidos como un subgrupo de los 'arqueogasterópodos'. Los Caenogastropoda (antiguamente conocidos como Prosobranchia) comparten unos pocos caracteres primitivos (probablemente ancestrales) como la respiración a través de branquias y la presencia de un opérculo. Usualmente son de sexos separados. En la región neotropical están representados por 7 familias, de las cuales la más diversa es la de los Cochliopidae (fundamentalmente por el género *Heleobia*), seguida por los Ampullariidae. Este grupo ha invadido los ambientes de agua dulce en varias oportunidades a lo largo de la historia de la vida, al menos tantas veces como el número de superfamilias que existen (Strong et al. 2008).

Los Heterobranchia (incluyen los grupos previamente conocidos como Heterobranchia, Opisthobranchia y Pulmonata) contienen las restantes familias. Dentro

de este grupo, los Pulmonata son los más diversificados, con 4 familias (Physiidae, Planorbidae, Chilinae y Lymnaeidae). Se caracterizan por haber perdido las branquias a lo largo de su evolución y respirar por una invaginación del manto, que funciona como un pulmón. Tienen usualmente conchas más finas que las de los Caenogastropoda, carecen de opérculo y son hermafoditas. Todos se incluyen en el grupo de los Basommatophora, llamado así por tener los ojos en la base de los tentáculos. A diferencia de los Caenogastropoda, los Pulmonata han conquistado los ambientes dulceacuícolas a partir de una única invasión que data del Jurásico Tardío. De las 4 familias representadas en la región neotropical, los Lymnaeidae son los más antiguos, seguidos por los Physiidae y los Planorbidae. Estos últimos incluyen a las lapas de agua dulce, previamente separadas como Ancyliidae.

Tabla 2. Clasificación taxonómica y número de especies de gasterópodos (Clase: Gastropoda) presentes en ambientes dulceacuícolas de la región neotropical. Debido a que la taxonomía está siendo revisada, muchos grupos permanecen en un estatus incierto, por lo que se mencionan aquí como grupos informales/clados. Datos tomados de Malek (1983), Naranjo-García (2003), Rumi et al. (2008), Strong et al. (2008), Nava et al. (2011) y De Francesco (2013).

Grupo informal / Clado	Clado	Familia	Especies	Ejemplos
Neritimorpha	Cycloneritimorpha	Neritidae	~10	<i>Vitta meleagris</i>
Caenogastropoda	Architaenioglossa	Ampullariidae	50-113	<i>Pomacea canaliculata</i>
		Viviparidae	1	
	Sorbeoconcha	Pachychilidae	30-60	<i>Pachychilus indiorum</i>
		Thiaridae	30	<i>Aylacostoma chloroticum</i>
	Littorinimorpha	Cochliopidae	176	<i>Heleobia parchappii</i>
		Hydrobiidae	21	<i>Pyrgophorus platyrachis</i>
		Lithoglyphidae	?	<i>Potamolithus agapetus</i>
Heterobranchia	Allogastropoda	Pomatiopsidae	1	<i>Idiopyrgus souleyetianus</i>
		Glacidorbidae	1	<i>Gondwanorbis magallanicus</i>
	Opisthobranchia	Tantulidae	1	<i>Tantulum elegans</i>
	Pulmonata	Chilinae	~15	<i>Chilina gibbosa</i>
		Lymnaeidae	7	<i>Lymnaea viator</i>
	Planorbidae	59	<i>Biomphalaria peregrina</i>	
	Physidae	38	<i>Stenophysa marmorata</i>	

Ecología

Los moluscos dulceacuícolas habitan una gran variedad de ambientes acuáticos como arroyos, ríos, canales, manantiales, lagos, pantanos y cascadas, debido a que pueden tolerar un amplio rango de variables ambientales. Tanto en bivalvos como gasterópodos, los requerimientos especie-específicos están asociados mayormente con la estructura de hábitat, tamaño del cuerpo de agua y velocidad de corriente que con características físico-químicas del agua (Dillon 2006; McMahon y Bogan 2001; Kenneth 2001).

En general, los bivalvos que habitan en lagos tienden a preferir zonas cercanas a la superficie, pero también es posible encontrar algunos ejemplares hasta los 2 m de

profundidad como es el caso de algunas especies del género *Pisidium* (Dillon 2006). Las distintas formas de vida de los bivalvos han permitido su adaptación a hábitats con diferentes tipos de sustratos, pudiendo encontrarse asociado a fondos arenosos (ej. Unionidae), limosos (ej. algunas especies de *Sphaerium*) o en sedimento con alto contenido orgánico (ej. algunas especies *Pisidium*) (Naranjo-García 2003). Por otro lado, los gasterópodos pueden estar asociados con la vegetación acuática (ej. especies de Planorbidae y Ampulariidae), o con sustratos duros (ej. Hydrobiidae, Neritidae). Algunos factores físico-químicos que pueden condicionar su distribución son temperatura y disponibilidad de calcio. No obstante, aunque no siempre existe una relación clara, variables como el pH, alcalinidad y conductividad también han sido asociadas a la distribución y abundancia de moluscos, dado a que generalmente tienen relación con las concentraciones de calcio en el agua (McMahon y Bogan 2001; Ciocco y Scheibler 2008). Conocer las preferencias de hábitat de cada especie es fundamental en los estudios paleoambientales, debido a que dentro de cada cuerpo de agua pueden reconocerse diferentes microhábitats, lo que brinda una importante herramienta para considerarlos bioindicadores (Tietze y De Francesco 2010). Debido a la amplia tolerancia ecológica exhibida en la mayoría de los casos resulta imprescindible llevar adelante estudios de distribución de las especies actuales en cada una de las regiones geográficas de interés, a los fines de poder ajustar los valores de tolerancia locales y, de esta manera, contar con un modelo análogo confiable para reconstruir los paleoambientes. No resulta útil transferir los valores de tolerancia a determinada variable ambiental de una especie en un ambiente similar pero ubicado en otra región geográfica muy alejada de la que se intenta reconstruir.

3. Metodología

Actual

Las técnicas de muestreo para moluscos actuales son las mismas que se utilizan para estudios ecológicos y pueden variar dependiendo de la diversidad y tipo de malacofauna que se encuentre. Se pueden utilizar tubos plásticos, que se hincan en el sedimento hasta una profundidad determinada, dependiendo de la presencia de bivalvos infaunales. Una técnica que resulta adecuada para muestrear la totalidad de las comunidades presentes en un cuerpo de agua es la de delimitar un área de 5 m² (que resulta adecuada para la baja diversidad exhibida por los moluscos en agua dulce; Cummins 1994) y dentro de la misma recolectar tanto manualmente como con la ayuda de tamices (una medida adecuada es 0,5 mm de abertura de malla), todos los moluscos presentes hasta una profundidad de 5 cm (véase Tietze y De Francesco 2012). Dependiendo de la heterogeneidad ambiental, el área puede reemplazarse por una transecta. Otra posibilidad es muestrear por tiempo, por ejemplo, recorriendo el ambiente y tomando muestras manualmente y con ayuda de tamices de los distintos subambientes presentes durante 20 ó 30 minutos. En todos los casos, es importante

que se realicen muestreos replicados y que el muestreo sea realizado siempre por el mismo operador para evitar sesgos en el mismo.

A la vez que se muestrean los moluscos es importante realizar mediciones de las principales variables ambientales (profundidad, temperatura, pH, conductividad, oxígeno disuelto, velocidad de corriente) y tomar una muestra de agua para posterior análisis químico en el laboratorio y de sedimento. De esta manera podremos luego analizar la relación entre las distintas especies y las variables ambientales (para poder usarlos como bioindicadores paleoambientales), que es el objetivo último que se persigue con este tipo de estudios. Dado que en el registro fósil los ensambles se encuentran condensados temporalmente (debido al time-averaging) es importante que para que los datos sean representativos, los muestreos se realicen en toda la variabilidad de condiciones ambientales posibles del ambiente (i.e., distintas estaciones, distintos años).

Paleo

La extracción de testigos de sedimento es el método más frecuente para colectar moluscos depositados en sedimentos lacustres pasados. La zona de extracción de testigos depende principalmente del objetivo del investigador y del tipo de lago. Debido a que los moluscos habitan preferentemente en zonas poco profundas, en lagos más profundos es adecuado que los testigos sean tomados en zonas cercanas a la orilla. Sin embargo, es importante considerar, que este último sitio podría presentar diversos hiatus cuando se presente un nivel bajo de agua.

Una vez en el laboratorio, el testigo debe ser cuidadosamente abierto, para evitar romper las conchas. Aunque el sedimento puede ser extruido y submuestreado inmediatamente, el corte transversal del testigo es el más adecuado para este trabajo. El submuestreo del testigo va a depender principalmente de la resolución temporal que se requiera en la investigación. Sin embargo, la abundancia de los moluscos usualmente tiende a ser baja, por lo que es recomendable submuestrear al menos cada uno o dos centímetros.

Los moluscos pueden ser colectados desde cada submuestra utilizando tamices de distintos tamaños y aplicando agua suavemente para disgregar la materia orgánica y mineral. Aunque esto no asegura una limpieza completa, principalmente para gasterópodos, es el primer paso para eliminar el sedimento. La separación de las conchas puede hacerse bajo estereoscopio cuando se requiera, utilizando pinzas cuidadosamente.

En caso de realizar análisis químicos, tales como isotopos estables, las conchas requerirán de una mayor limpieza, por lo que estas pueden ser remojadas en H₂O₂ (15%), lavadas con agua destilada y secadas a temperatura ambiente. Si aún así la

materia orgánica siguiera adherida a la concha, es recomendable utilizar ultrasonido cuidadosamente y por un breve lapso de tiempo, debido a que esto podría también desintegrar la concha.

El conteo de los moluscos debe realizarse bajo lupa binocular. Es importante utilizar criterios respecto al conteo, por ejemplo para bivalvos, debe considerarse cual valva será contada con el fin de no sobreestimar el número de individuos por muestras. La identificación puede hacerse utilizando bibliografía de bivalvos y gasterópodos actuales (ej. Cuezco 2009; Ituarte 2009), bajo el supuesto de que los moluscos han sufrido cambios evolutivos menores, por lo que deberían mantener características similares a la de los individuos en el presente.

4. El uso de los moluscos como paleobioindicadores

Reconstrucciones paleoambientales

Hasta fines de la década de 1980, las reconstrucciones paleoambientales a partir de moluscos dulceacuícolas estuvieron basadas fundamentalmente en datos cualitativos (presencia de especies). Así, por medio de una inferencia uniformitarianista directa se transfería la información ambiental de las especies modernas al fósil. Hacia fines de los 80, se comenzó a incorporar el análisis cuantitativo y estadístico de tipo univariado (e.g., Kerleñevich 1989), lo que permitió diferenciar ambientes a una escala de mayor detalle en relación a la abundancia relativa de las especies presentes, aunque las inferencias ambientales continuaban obteniéndose como variables cualitativas a partir de la información ecológica obtenida de claves taxonómicas o de trabajos ecológicos puntuales.

A partir del presente siglo se comenzó a evaluar la utilización de los moluscos como bioindicadores paleoambientales, para lo cual se han recopilado paralelamente datos cuantitativos sobre la abundancia de las especies modernas y su relación con las variables ambientales (en muchos casos desconocida) lo que permitió relacionar ambos conjuntos de variables con técnicas de ordenamiento cuantitativas, de tipo multivariado. Esta nueva aproximación metodológica permitió establecer modelos análogos modernos para las distintas especies presentes en los cuerpos de agua de diferentes regiones, que luego pudieron ser aplicados a la reconstrucción paleoambiental local (e.g., De Francesco et al. 2007, 2013; De Francesco y Hassan 2009; Tietze y De Francesco 2010, 2012). Esto permitió un mayor detalle de las fluctuaciones paleoambientales que tuvieron lugar a lo largo del Cuaternario, pudiéndose reconocer en muchos casos variaciones no evidenciadas por medio de estudios geológicos. Sin embargo, una limitación importante para el uso de los moluscos como bioindicadores paleoambientales es la baja diversidad que presentan en los ambientes de agua dulce, lo que impide la utilización de técnicas de inferencia cuantitativa y, en muchos casos, la aplicación de técnicas estadísticas paramétricas, como ocurre con otros registros

indirectos más diversos, como las diatomeas o el polen. En casos de muy baja diversidad, la presencia de especies indicadores críticas puede ser un indicador útil, de preferencia sobre la zonación numérica, debido a que esta última no da suficiente peso a los taxa que se encuentran en bajas frecuencias (Meyrick y Karrow 2007).

El registro sedimentario de los moluscos en los ambientes dulceacuícolas es frecuentemente discontinuo y presenta distribuciones irregulares. Una excepción a este patrón general se presenta en el caso de las lagunas pampeanas ubicadas en la región centro-este de Argentina, próxima al Océano Atlántico. Aquí, se registran sucesiones de moluscos completas y continuas para los últimos 5000 años (De Francesco et al. 2013), lo que constituye una circunstancia excepcional para inferir cómo fue la evolución paleoambiental de estos cuerpos de agua. Es de destacar que en este caso se trata de uno de los pocos estudios realizados en sedimentos lacustres, obtenidos de testigos sedimentarios, ya que la mayoría de los antecedentes de reconstrucción paleoambiental en Sudamérica han sido realizados a partir de sucesiones aluviales aflorantes en las márgenes de arroyos y ríos.

En el presente ejemplo se estudiaron tres lagunas (Hinojales San Leoncio, Lonkoy, y Nahuel Rucá), a través de testigos sedimentarios que fueron extraídos de la zona más profunda de cada lago. La longitud de los testigos varió entre 113 y 142 cm y representó un lapso temporal desde los circa 6000 años cal. A.P. hasta los circa 300 años cal. A.P. Los testigos se submuestrearon con tamices de 0.5 mm de abertura de malla a intervalos regulares de 1-2 cm y se cuantificó la abundancia por especie obtenida en cada nivel. Con los datos obtenidos y, debido a la baja diversidad presente (6 especies), se dividió a las sucesiones en zonas caracterizadas por diferencias en la composición malacológica, definidas por la aparición de especies críticas (Figura 2). A partir de la integración de los resultados obtenidos en los tres testigos (y en base a los modelos ecológicos actuales desarrollados en estudios previos) se pudo reconstruir la evolución paleoambiental del área. El registro Holoceno de moluscos se inició con anterioridad a los 6000 años cal. B.P. y estuvo representado por ensambles compuestos exclusivamente por el caracol dulceacuícola-salobre *Heleobia parchappii* (familia Cochliopidae) junto al caracol terrestre asociado a ambientes acuáticos *Succinea meridionalis*, sugiriendo el desarrollo de cuerpos de agua muy someros e inestables. Entre los 6000 y los 5400 años cal. A.P. se produjo una expansión de *H. parchappii*, que rápidamente dominó los ensambles, dando lugar a niveles monotípicos, lo que estaría indicando condiciones de aguas salobres, lo que podría haber estado indirectamente influenciado por el aumento del nivel del mar que tuvo lugar entre los 6500 y 5500 años A.P. en el área. A los circa 5400 años cal. A.P., se registra por primera vez el caracol pulmonado *Biomphalaria peregrina* (familia Planorbidae), que va incrementando gradualmente su abundancia hacia los circa 3600 años cal. A.P., sugiriendo una mayor influencia dulceacuícola en el sistema probablemente como consecuencia de una menor influencia del efecto marino y/o un incremento en las precipitaciones.

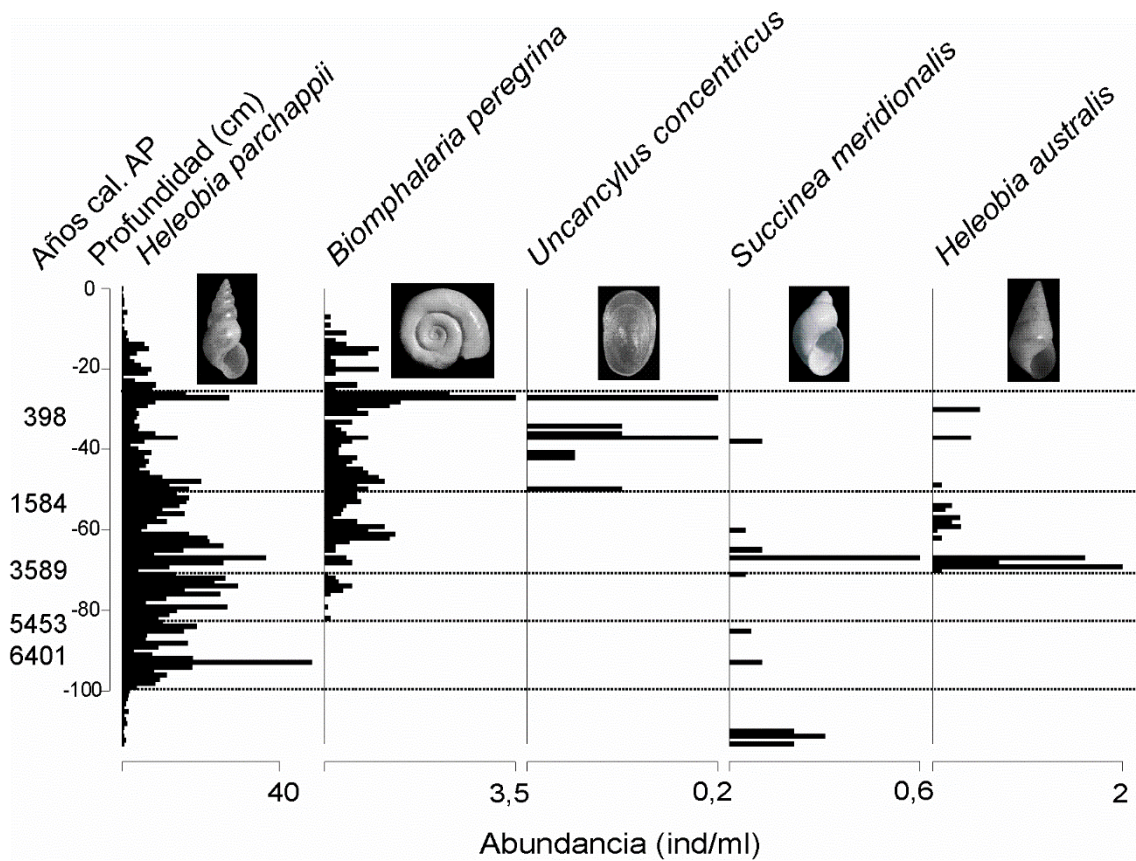


Figura 2. Abundancias de especies de moluscos (ind./ml) registradas en el testigo sedimentario de Laguna Hinojales-San Leoncio. Modificado de De Francesco et al. (2013).

Entre los 3600 y los circa 1700 años cal. A.P. se registran algunos ejemplares del caracol estuárico *Heleobia australis*, sugiriendo una vez más condiciones salobres en los cuerpos de agua, que coinciden con el origen de la laguna costera Mar Chiquita (muy próxima al área de estudio) de donde posiblemente habrían migrado los caracoles hacia el interior del continente. Esto está sugiriendo una posible conexión entre los cuerpos de agua (que habrían sido más salobres), posiblemente como un efecto secundario del descenso del nivel del mar. Finalmente, a los circa 1700 años cal. A.P. se registra por primera vez la lapa de agua dulce *Uncancylus concentricus*, sugiriendo el establecimiento de condiciones dulceacuícolas (ya sin influencia marina significativa), con ambientes altamente vegetados.

Además de poder reconstruir cualitativamente los paleoambientes, los resultados obtenidos en el análisis de estas tres sucesiones continuas de moluscos permitieron entender algunos aspectos relacionados a la ecología de las especies que habitan actualmente las lagunas. Así, la dominancia actual en las lagunas de la especie *H. parchappii* (que puede vivir tanto en aguas dulces como salobres) puede ser entendida como el resultado de una larga historia habitando este tipo de ambientes inestables,

sujetos a variaciones naturales en la salinidad. Al ser un alimentador de depósito (*deposit-feeder*), su supervivencia se habría visto también favorecida en estos ambientes sujetos a variaciones en la cobertura vegetal, una situación que no se da con las demás especies de caracoles. El hallazgo de restos fósiles de la especie estuárica *H. australis* hasta unos 40 km hacia dentro del continente (laguna Lonkoy) sugiere que esta especie habría tenido una distribución más amplia en el pasado. En este sentido, los hábitats adecuados para esta especie (aguas salobres) se habrían extendido hacia el interior a través de una conexión acuática desde la laguna Mar Chiquita, lo que no ocurre en la actualidad debido a las bajas salinidades que presentan actualmente los arroyos y lagunas que discurren hacia el estuario.

Reconstrucciones paleoclimáticas

El amplio rango de tolerancia que tienen los moluscos a diferentes condiciones ambientales, les permite ocupar diferentes tipos de hábitat, de modo que asociarlos a cambios en las variables climáticas resulta complejo. Sin embargo, si se integra la información actual sobre su ecología, las conchas de estos moluscos pueden contener información relevante que puede ser utilizada para reconstruir variables climáticas y ambientales, ya que su composición depende de la alimentación y principalmente de las características del agua en la cual el molusco habita.

El análisis de isótopos estables, especialmente de oxígeno ($\delta^{18}\text{O}$) en las conchas de moluscos, es una de las principales aplicaciones para reconstruir variables climáticas. La relación se basa en que la composición isotópica del carbonato de la concha está en equilibrio isotópico con el agua del lago y los efectos fisiológicos (efecto vital) que pudieran modificar la señal isotópica en la concha son menores (Leng y Marshall 2004). La composición de $\delta^{18}\text{O}$ del agua del lago a su vez puede ser afectada por cambios en la tasa de evaporación/precipitación (E/P) cuando las cuencas son cerradas y las aguas tienen grandes tiempos de residencia, mientras que, en lagos de cuencas abiertas y con aguas con bajo tiempo de residencia, la composición isotópica del lago puede ser influenciada principalmente por la precipitación de $\delta^{18}\text{O}$ y/o la temperatura (Leng y Marshall 2004).

Aunque numerosos trabajos han sido desarrollados en Europa utilizando diversos tipos de moluscos (Leng et al. 1999; Jones et al. 2002), la zona neotropical cuenta con un limitado registro en esta temática. Parte de estas limitaciones se deben a la poca preservación que presentan las conchas en los sedimentos, lo que impide tener un registro continuo a través del perfil sedimentario y además, para obtener un valor confiable del isótopo de oxígeno, es importante tener un número considerable de individuos (Jones et al. 2002), lo que puede ser poco común en algunos sistemas lacustres. Los trabajos realizados en la zona incluyen lagos de Guatemala, México y Chile y paleolagos de Argentina. Debido a las características de los lagos estudiados,

los resultados se han interpretado como variaciones en la tasa de E/P, de modo que valores más altos se relacionan a una mayor tasa de E/P, mientras que valores más bajos reflejan una menor tasa de E/P.

Desde el Lago Peten-Itzá (16°55'N, 89°50'O) en Guatemala, se extrajo un testigo sedimentario de 454 cm que contiene un registro de gasterópodos desde 9000 años ¹⁴C A.P. (Curtis et al. 1998). Los análisis realizados en este testigo, incluyeron entre otros, el polen e isótopos estables de oxígeno en dos gasterópodos de la familia Hydrobiidae. Los altos valores de $\delta^{18}\text{O}$ en *Pyrgophorus* sp. y *Cochliopina* sp., durante el Holoceno temprano sugerían una ligera disminución de temperaturas en este periodo. Sin embargo las discrepancias con la evidencia palinológica, permitieron establecer que la evaporación registrada respondía a un cambio en la relación área/volumen del lago asociado al proceso de llenado del cuerpo de agua durante este periodo. La disminución de los valores durante el Holoceno medio, sugirieron un incremento de la humedad, relacionado a un aumento en la precipitación, lo que coincidió con los resultados encontrados por Hodell et al. (1995) en lago Chichancanab, México. Finalmente, durante el Holoceno tardío las variaciones isotópicas fueron menores y no registraron el periodo seco que ha sido documentado alrededor de 1100 AD en la Península de Yucatán (Hodell et al. 1995). Una explicación a esta discrepancia fue que el gran tamaño del lago y su profundidad solo permitían registrar cambios que persistieron durante varias décadas y por lo tanto su respuesta a cambios en la tasa de evaporación/precipitación era más lenta que en lagos pequeños.

En la parte norte de esta misma Península, Hodell et al. (2005) extrajeron un testigo sedimentario en el lago Aguada X'caamal (20°36'N, 89°42'O) en México, enfocándose principalmente en los cambios climáticos ocurridos durante la Pequeña Edad de Hielo. Los análisis isotópicos fueron realizados en el gasterópodo *Pyrgophorus coronatus* y conjuntamente se realizaron análisis isotópicos en ostrácodos y algas carófitas. El incremento de los valores de $\delta^{18}\text{O}$ en gasterópodos y ostrácodos durante el siglo XV dejó en evidencia un cambio hidrológico importante en el lago, asociado a una reducida precipitación y/o aumento de evaporación, que pudo estar asociado a un cambio en la posición de la zona de convergencia intertropical (ZCIT) que afectó el noreste de la Península de Yucatán.

En Chile, Álvarez et al. (2015) estudiaron el lago Cisnes (47°06'S, 72°26'O), localizado en el ecotono de estepa en el norte de la Patagonia chilena. El estudio se enfocó en las variaciones isotópicas de dos taxa de gasterópodos: *Lymnaea* sp. (familia Lymnaeidae) y *Biomphalaria* sp. (familia Planorbidae) y una especie de bivalvo *Pisidium* sp. (familia Sphaeriidae) con el objetivo de reconstruir las variaciones climáticas durante el Holoceno tardío en esta zona. Los valores de $\delta^{18}\text{O}$ en las tres especies de moluscos mostraron diferencias en algunas partes del registro (Figura 3), las que fueron asociadas principalmente a los diferentes microhábitats que utilizan estos organismos. No obstante, con posterioridad a 1800 años cal A.P., las tendencias fueron similares y

prevalcieron altos valores de $\delta^{18}\text{O}$ indicando condiciones secas hasta 1100 años cal. A.P. Finalmente, el cambio a condiciones húmedas alrededor de 750 años cal. A.P., se evidencia por una caída de los valores isotópicos. Los cambios en las tasas de E/P evidenciadas a través de los moluscos, estarían asociados a variaciones en la intensidad de los vientos del oeste, los cuales son uno de los controles principales de la precipitación en el área.

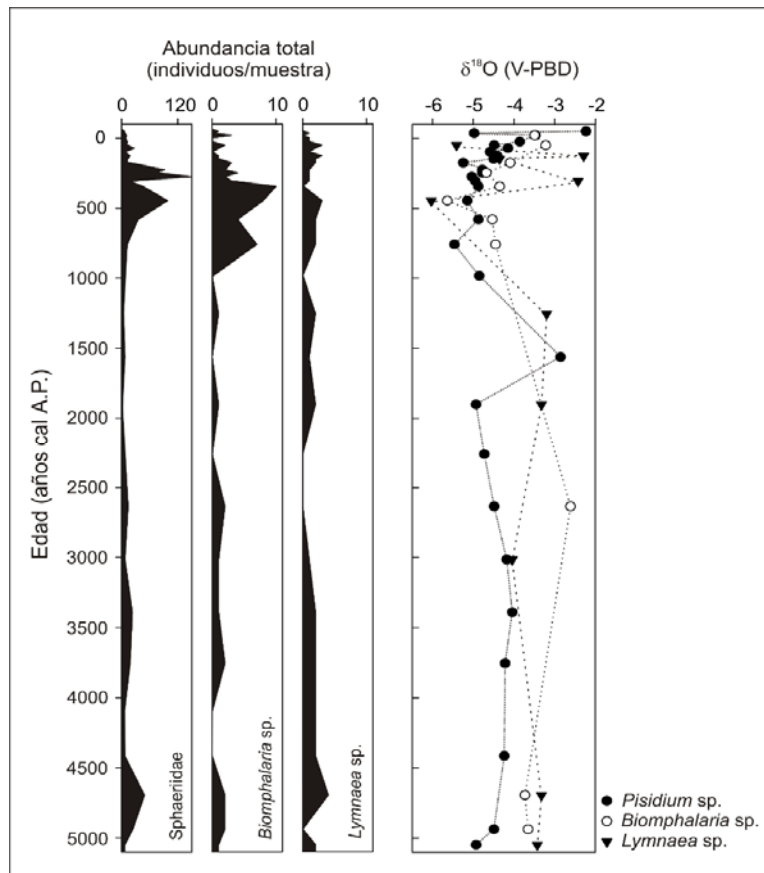


Figura 3. Abundancia de tres taxa de moluscos encontrados en el testigo sedimentario del Lago Cisnes y su señal isotópica de oxígeno. La abundancia de la familia Sphaeriidae fue representada por *Musculium* sp. y *Pisidium* sp. Modificado de Álvarez et al. (2015).

Bonadonna et al. (1999) utilizaron la señal isotópica de oxígeno en dos gasterópodos dulceacuícolas *Helebiaparchappii* y *Biomphalaria* encontradas en sedimentos de un antiguo ambiente palustres-lacustre (Paso Otero) en el área pampeana de Buenos Aires (59°06' S, 38°14O) en Argentina. Los altos valores isotópicos de *H. parchappii* antes de 24700 años A.P. podrían relacionarse a una fase árida ocurrida en esta zona, mientras que la caída de los valores de $\delta^{18}\text{O}$ alrededor de 8500 años A.P. fue interpretada como un aumento en la humedad atmosférica y un incremento en las precipitaciones unido a un aumento en la temperatura posterior al Último Máximo Glaciar.

5. Perspectivas a futuro

Hay muchas líneas de investigación que deben ser abordadas para poder avanzar en el conocimiento de los moluscos dulceacuícolas como indicadores paleoambientales y paleoclimáticos. Hay muy poca información sobre moluscos cuaternarios en ambientes lacustres y muy restringidos al extremo sur de Sudamérica. En este sentido es necesario incrementar las exploraciones hacia otras regiones y ambientes. Al presente se desconoce la escala de mezcla temporal (time-averaging) que representan los ensambles fósiles en diferentes ambientes que son de importancia no sólo para comprender la influencia de los procesos de degradación en los sedimentos sino también ajustar la significancia de las edades radiocarbónicas obtenidas a partir de los restos carbonáticos. Hay una necesidad imperiosa de incrementar los estudios tafonómicos en diferentes tipos de ambientes continentales a los fines de conocer cómo los patrones y los procesos de preservación varían a escalas local y regional. Por otro lado, el uso de isótopos estables obtenidos en moluscos como paleoindicadores climáticos tiene un gran potencial, aún poco desarrollado en lagos neotropicales. Su utilización sin embargo requiere comprender la ecología de estos organismos y la interacción con el medio en que habitan en términos isotópicos. Nuestro conocimiento sobre aspectos paleoecológicos y tafonómicos en moluscos dulceacuícolas se encuentra en una etapa inicial de desarrollo, con resultados preliminares que muestran un gran potencial para futuras líneas de investigación.

6. Agradecimientos

A Liseth Pérez Alvarado, Alex Correa-Metrio y Julieta Massaferro por invitarnos a participar de este volumen especial. CGDF es investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina. DA, es colaborador del Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y Minería (CRHIAM).

7. Referencias bibliográficas

- Álvarez D., Keppens E., Fagel N., Araneda A., Urrutia R. 2015. Late Holocene climate variability on the eastern flank of the Patagonian Andes (Chile): A $\delta^{18}\text{O}$ record from mollusks in Lago Cisnes (47°S). *The Holocene* 25 (8): 1220-1230.
- Bonadonna F., Leone G., Zanchetta G. 1999. Stable analyses on the last 30 ka molluscan fauna from Pampa grassland, Bonaerense región, Argentina. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 153: 289-308.
- Bogan A.E. 2008. Global diversity of freshwater mussels (Mollusca, Bivalvia) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 139-147.
- Bouchet P., Rocroi J.P. 2005. Classification and nomenclature of gastropod families. *Malacologia*, 47:1-397.
- Brown M.E., Kowalewski M., Neves R.J., Cherry D.S., Schreiber M.E. 2005. Freshwater mussel shells as environmental chronicles: geochemical and taphonomic

- signatures of mercury-related extirpations in the North Fork Holston River, Virginia. *Environmental Science and Technology* 39: 1455-1462.
- Cioco N., Scheibler E. 2008. Malacofauna of the littoral benthos of saline lake in southern Mendoza, Argentina. *Fundamental and Applied Limnol.* 172 (2): 87-98.
- Cristini P.A., De Francesco C.G. 2012. Análisis tafonómico de moluscos por debajo de la interfase agua-sedimento en la laguna Nahuel Rucá (provincia de Buenos Aires, Argentina). *Ameghiniana* 49: 594-605.
- Cuezco M. 2009. Mollusca gastropoda. En: Dominguez, E., Fernandez, H. (Eds.), *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, pp. 597-629.
- Cummins R.H. 1994. Taphonomic processes in modern freshwater molluscan death assemblages: Implications for the freshwater fossil record. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 108: 55-73.
- Curtis J., Brenner M., Hodell D., Balsler R. 1998. A multi-proxy study of Holocene environmental change in the Maya Lowlands of Peten, Guatemala. *Journal of Paleolimnology* 19: 139-159.
- De Francesco C.G. 2007. Las limitaciones a la identificación de especies de *Heleobia Stimpson, 1865* (Gastropoda: Rissoidae) en el registro fósil del Cuaternario tardío y sus implicancias paleoambientales. *Ameghiniana* 44: 631-635.
- De Francesco C.G., Zárate M.A., Miquel S.E. 2007. Late Pleistocene mollusc assemblages and inferred paleoenvironments from the Andean piedmont of Mendoza, Argentina. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 251: 461-469.
- De Francesco C.G., Hassan G.S. 2009. The significance of molluscs as paleoecological indicators of freshwater systems in central-western Argentina. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 274: 105-113.
- De Francesco C.G., Tietze E., Cristini P.A. 2013. Mollusk successions of Holocene shallow-lake deposits from the southeastern Pampa plain, Argentina. *Palaios* 28: 851-862.
- De Francesco C.G. 2013. Freshwater Mollusks. En: Elias, S.A. (Ed.), *The Encyclopedia of Quaternary Science* vol. 3. Elsevier, Amsterdam, pp. 281-291.
- del Río C.J., Camacho H.H., Aguirre M.L., Caramés A., Cusminsky G.C., De Francesco C.G., Farinati E.A., Gordillo S., Laprida C., Miquel S.E., Morton L.S. 2007. Invertebrados del Cenozoico de la Argentina. *Asociación Paleontológica Argentina, Publicación Especial* 11: 221-235.
- Dillon R.T., Jr. 2006. Freshwater Gastropoda. En: Sturm, C.F., Pearce, T.A., Valdés, A. (Eds.), *The Mollusks: A Guide to Their Study, Collection, and Preservation*, American Malacological Society, Pittsburgh, pp. 251-259.
- Hodell D., Brenner M., Curtis J., Medina-Gonzalez R., Idefonso-Chan E., Albornaz-Pat A., Guilderson T. 2005. Climate change on the Yucatan Peninsula during the Little Ice Age. *Quaternary Research* 63: 109-121.
- Hodell D.A., Curtis J.H., Brenner M. 1995. Possible role of climate in the collapse of Classic Maya civilization. *Nature* 375:391-394.
- Ituarte C. 2009. Mollusca: Bivalvia. En: Dominguez, E., Fernandez, H. (Eds.), *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: sistemática y biología*, Fundación Miguel Lillo, Tucumán, pp. 567-594.
- Jones M.D., Leng M.J., Eastwood W.J., Keen D.H., Turney C.S.M. 2002. Interpreting stable-isotope records from freshwater snail-shell carbonate: a Holocene case study from Lake Golhisar, Turkey. *The Holocene* 12: 629-634.

- Kenneth B. 2001. Mollusca: Gastropoda. En: Thorp J. y Covich, A (eds), Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Elsevier, Londres, 297-329.
- Kerlleñevich S.C. 1989. Statistic study of the Holocene fresh water malacofauna from the Agua Blanca Formation, Arroyo Napostá Grande, Buenos Aires Province, Argentina. Quaternary of South America and Antarctic Peninsula 7: 137-160.
- Kotzian C.B., Simões M.G. 2006. Taphonomy of recent freshwater molluscan death assemblages, Touro Passo Stream, southern Brazil. Revista Brasileira de Paleontologia 9: 243-260.
- Leng M.J., Roberts N., Reed J., Sloane H. 1999. Late Quaternary paleohydrology of the Konya Basin, Turkey, based on isotope studies of modern hydrology and lacustrine carbonates. Journal of Paleolimnology 22: 187-204.
- Leng M.J., Marshall J.D. 2004. Paleoclimate interpretation os stable isotope data from lake sediment archives. Quaternary Science Reviews 23: 811-831.
- Malek E.A. 1983. The South American hydrobioid genus *Idiopyrgus* Pilsbry, 1911. The Nautilus 97: 16-20.
- Martello A.R., Kotzian C.B., Simões M.G. 2006. Quantitative fidelity of Recent freshwater mollusk assemblages from the Touro Passo River, Rio Grande do Sul, Brazil. Iheringia Série Zoologia 96: 453-465.
- McMahon R., Bogan A. 2001. Mollusca: Bivalvia. En: Thorp J. y Covich, A (eds), Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates. Elsevier, Londres, 331- 429.
- Meyrick R.A., Karrow P.F. 2007. Three detailed, radiocarbon-dated, Holocene tufa and alluvial fan mollusc successions from southern Ontario: the first in northeastern North America. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 243: 250-271.
- Naranjo-García E. 2003. Moluscos continentales de México: Dulceacuícolas. Revista de Biología Tropical 51: 495- 505.
- Nava M., Severeyn H., Machado N. 2011. Distribución y taxonomía de *Pyrgophorus platyrachis* (Caenogastropoda: Hydrobiidae), en el Sistema de Maracaibo, Venezuela. Revista de Biología Tropical 59: 1165-1172.
- Prieto A.R., Blasi A.M., De Francesco C.G., Fernández C. 2004. Environmental history since 11,000 14C yr B.P. of the northeastern Pampas, Argentina, from alluvial sequences of the Luján River. Quaternary Research 62: 146-161.
- Rumi A., Gutiérrez Gregoric D.E., Núñez V., Darrigran G.A. 2008. Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. Revista de Biología Tropical 56: 77-111.
- Strong E.E., Gargominy O., Ponder W.F., Bouchet P. 2008. Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. Hydrobiologia 595: 149-166.
- Tietze E., De Francesco C.G. 2014. Taphonomic differences in molluscan shell preservation in freshwater environments from the southeastern Pampas, Argentina. Palaios 29: 501-511.
- Tietze E., De Francesco C.G. 2012. Compositional fidelity of subfossil mollusk assemblages in streams and lakes of the southeastern Pampas, Argentina. Palaios 27: 401-413.
- Tietze E., De Francesco C.G. 2010. Environmental significance of freshwater mollusks in the Southern Pampas, Argentina: to what detail can local environments be inferred from mollusk composition? Hydrobiologia 641: 133-143.

Estadística

Capítulo 11: Métodos cuantitativos para la reconstrucción paleoambiental

Dayenari Caballero-Rodríguez, Posgrado en Ciencias de la Tierra, Universidad Nacional Autónoma de México, México, dayenarix@gmail.com

Alexander Correa-Metrio, Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, acorrea@geologia.unam.mx

Palabras clave: Funciones de transferencia, reconstrucciones cuantitativas, paleoindicadores.

1. Introducción

Desde la década de 1920 se han utilizado los fósiles como herramientas para reconstruir el pasado de la Tierra (von Post 1924), y en principio se realizaron interpretaciones paleoambientales simples y de carácter relativo (por ejemplo: “más frío” o “más cálido”). Sin embargo, con el paso del tiempo, el enorme desarrollo tecnológico e informático ha permitido disponer de una gran cantidad de datos, tanto del ambiente moderno como de los registros geológicos. Gracias a esto, se han podido desarrollar diversas técnicas capaces de reconstruir cuantitativamente los parámetros ambientales del pasado con buena precisión (ej. Birks 2012). Este tipo de reconstrucciones se caracteriza por asignar valores los parámetros reconstruidos por medio de métodos numéricos y/o estadísticos, en vez de categorizar los resultados en condiciones relativas con respecto al entorno moderno. El uso de análisis estadísticos también resalta características y tendencias que pueden pasar desapercibidas cuando los resultados se presentan en categorías discretas de carácter cualitativo. Así mismo, permite reconocer una señal ambiental entre el ruido generado por factores externos, o bien, debido a la variabilidad natural de los parámetros e indicadores bajo estudio (Birks y Gordon 1985, Birks 2003).

Dado que el uso de métodos cuantitativos requiere una evaluación y validación rigurosa, incrementa el nivel de objetividad de las interpretaciones y favorece la comparación de resultados a diferentes escalas espaciales y temporales. Así, el uso de herramientas numéricas reduce el carácter relativo de las reconstrucciones paleoambientales y permite la comparación directa de registros paleoambientales, aun si éstos se derivan de diferentes indicadores (Birks 1995; Birks 2003). Uno de los trabajos pioneros en este campo fue una reconstrucción de temperatura y salinidad del Pleistoceno tardío en el mar Caribe a partir de asociaciones de foraminíferos planctónicos (Imbrie y Kipp 1971). A partir de entonces, el uso y demanda de estudios

cuantitativos han aumentado, tanto para abastecer de información a los modelos climáticos, como para validarlos (Birks et al. 2010).

En este capítulo se presentan conceptos básicos subyacentes al estudio paleoambiental cuantitativo, y se ofrece una descripción de los métodos más comunes, mismos que han producido resultados satisfactorios en la región neotropical. Además, se enfatiza en los supuestos que subyacen a cada método, así como sus ventajas y desventajas, todo con la finalidad de ayudar al lector en la elección del procedimiento adecuado para que se ajuste mejor a la naturaleza de sus datos. Finalmente, se recomiendan funciones dentro del programa R (“R Development Core Team” 2009) para desarrollar de manera práctica cada uno de los métodos.

2. Características generales de los métodos cuantitativos

Al igual que los métodos tradicionales, las reconstrucciones cuantitativas se fundamentan en el principio del uniformitarismo, el cual indica que “*el presente es la clave del pasado*”. De esta forma, aunque en la reconstrucción paleoambiental existen diversos enfoques conceptuales y metodológicos, todos parten del conocimiento de la biología y ecología actual de los organismos, por esta razón, la metodología general siempre parte de la recolección de datos modernos sobre la relación entre los bioindicadores de interés y las variables ambientales que se desean reconstruir. Este primer paso es fundamental para calibrar el indicador por lo que muchos autores se refieren a esta base de datos como “conjunto de entrenamiento”. A partir de esta base de datos, se establece un modelo que relaciona al grupo biológico con las condiciones ambientales del lugar en el que se desarrolla, constituyendo de esta manera la herramienta clave para la interpretación del registro fósil. Esta última es conocida como *función de transferencia* y para su desempeño óptimo se requiere abarcar lo mejor posible el gradiente de variación del parámetro que nos interesa, así como contar con repeticiones que nos permitan captar la variabilidad y estimar la precisión de la relación entre el indicador y la variable ambiental. El ambiente de depósito también debe ser similar para evitar ruido potencial derivado de diferencias en los procesos tafonómicos (Imbrie y Kipp 1971, Imbrie y Webb 1981, Birks et al. 1990, Birks 2003).

Cada metodología observa al sistema desde diferentes enfoques y alimenta el modelo con diferentes tipos de información; no obstante, existe una serie de supuestos básicos implícitos en toda reconstrucción ambiental. Al incumplir alguno o varios de estos supuestos se incurre en una falta conceptual que conlleva a una reconstrucción espuria y sin valor comparativo (Imbrie y Kipp 1971, Imbrie y Webb 1981, ter Braak et al. 1993, Birks 2003). A continuación se resumen y explican los supuestos en cuestión:

- i. *Los bioindicadores están sistemáticamente relacionados con el ambiente en el que viven.* Es indispensable que las variables ambientales tengan un efecto, directo o indirecto, sobre el desarrollo ecológico y/o fisiológico del organismo, de

- esto depende la calidad del indicador. Cuanto mayor sea la respuesta del organismo al ambiente, mayor será la resolución del paleoindicador y mejor su desempeño como herramienta de reconstrucción.
- ii. *Los grupos biológicos en la colección de muestras modernas son los mismos que en el registro fósil y su respuesta ecológica no ha cambiado en el periodo de tiempo que abarca la reconstrucción.* En el caso de registros lacustres tropicales son inusuales las reconstrucciones cuantitativas anteriores al Cuaternario. Esto representa una ventaja sobre reconstrucciones más antiguas ya que la mayoría de los grupos biológicos del registro fósil están representados en la actualidad y se facilita su interpretación directa.
 - iii. *El modelo representa adecuadamente la respuesta biológica a la variable de interés.* La eficiencia del modelo depende en gran medida de la cantidad y calidad de información que lo alimenta, su poder predictivo debe ser suficiente para realizar reconstrucciones sin sesgos.
 - iv. *Otras variables ambientales distintas a la de interés tienen una influencia mínima o bien ya están contempladas en el modelo de entrenamiento.* Ningún modelo es perfecto, siempre existe un error asociado, sin embargo debemos asegurarnos de que este error no presente tendencias o patrones y sea considerablemente menor a la porción de variabilidad explicada por el modelo.

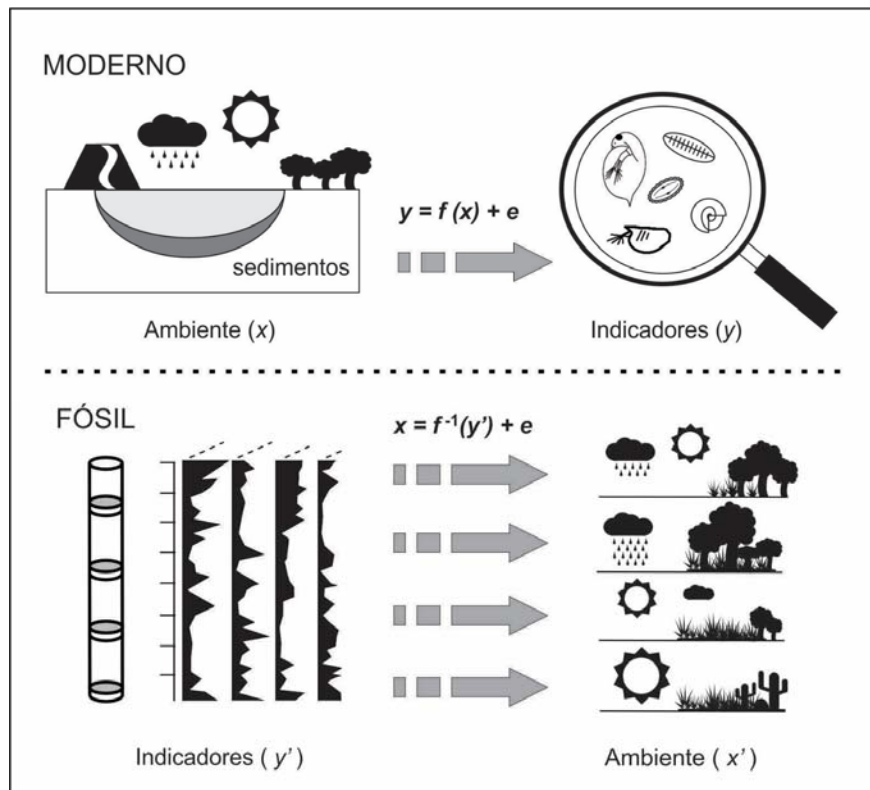


Figura 1. Representación esquemática del principio básico de las reconstrucciones cuantitativas.

Además de las consideraciones anteriores, cada método de reconstrucción presenta supuestos adicionales que delimitan las condiciones particulares en las que es posible un desempeño adecuado. Dichos supuestos deben tomarse en cuenta al elegir un método que se ajuste tanto a la información que podemos manejar como al parámetro que deseamos reconstruir. A continuación se describen algunos de los métodos utilizados en reconstrucciones ambientales neotropicales, resaltando sus ventajas y desventajas.

3. Análogos Modernos (MAT)

Conocida como MAT (por sus siglas en inglés, *Modern Analogue Technique*), esta técnica compara la composición de los ensamblajes fósiles con una colección de ensamblajes que representan comunidades modernas, y por ende condiciones ambientales (Prentice 1980). El supuesto básico de esta técnica es que comunidades similares en estructura y composición se forman bajo las mismas condiciones ambientales. Así, la reconstrucción paleoambiental se interpreta asignando los valores ambientales modernos a aquellas comunidades fósiles que se consideren análogos. Es necesario determinar qué nivel de similitud entre lo fósil y lo moderno se considera suficiente para establecer analogía entre asociaciones y por ende entre las condiciones modernas y las existentes al momento de la formación del registro fósil.

El hecho de que dos comunidades puedan considerarse similares se determina mediante la distancia que existe entre las asociaciones de indicadores que las representan en un espacio multi-dimensional, donde cada taxón representa una variable independiente y su proporción una coordenada dentro de dicho espacio. Esta distancia es el coeficiente de disimilitud, el cual toma un valor de cero cuando las dos comunidades son idénticas y valores positivos para muestras diferentes. La distancia entre dos muestras se puede medir mediante diferentes métodos (Overpeck et al. 1985, Gavin et al. 2003). No obstante, en muestras polínicas se ha demostrado que el mejor desempeño al establecer analogías se obtiene por medio del método de cuerda cuadrada (ecuación 3.1), aunque otros métodos como χ^2 (o chi) cuadrada también producen datos confiables (Prentice 1980, Overpeck et al. 1985).

$$d_{ij} = \sum_k (p_{ik}^{1/2} - p_{jk}^{1/2})^2 \quad (3.1)$$

En la Ecuación 3.1, d_{ij} es el coeficiente de disimilitud entre las asociaciones i y j ; p_{ik} es la proporción ($0 \leq p_{ik} \leq 1$) de la variable (taxón) k en la asociación i ; y p_{jk} es la proporción ($0 \leq p_{jk} \leq 1$) de la variable k en la asociación j .

Al utilizar el método de cuerda cuadrada se distinguen y acentúan los cambios en la estructura ecológica de una comunidad con respecto a las demás, pues aumenta la consideración de especies poco comunes sin exagerar el ruido producido por

especies muy raras cuya aparición puede estar más asociada con el azar (Prentice 1980).

El umbral que delimita lo que puede ser considerado como análogo o no, se determina dentro de la colección moderna o “conjunto de entrenamiento” mediante la estimación de la distancia máxima entre dos muestras consideradas como representantes del mismo tipo de comunidad. Por ende, es ideal que cada comunidad moderna esté representada por más de una muestra para tener una aproximación a la variabilidad interna de cada sistema. El umbral óptimo varía de acuerdo con el método de distancia que se utiliza, el número de taxa y la escala espacial del estudio (Prentice 1980, Overpeck et al. 1985). Si el umbral resulta muy bajo, se exagera la rigurosidad de la comparación, lo que puede resultar en falsos negativos, es decir la detección de no análogos cuando en realidad se trata de las mismas comunidades. Por el contrario, si el umbral es muy alto, la comparación se hace muy laxa e incrementa el número de falsos positivos, es decir detección de similitudes que no son ciertas. En el caso de utilizar la cuerda cuadrada como medida de distancia, el umbral oscila entre 0.05 para aplicaciones muy locales (Calcote 1988) hasta 0.40 en escala de regionales a continentales (Cheddady et al. 1997), siendo comúnmente valores de 0.12 a 0.20 para escalas intermedias (Overpeck et al. 1985, Jackson y Overpeck 2000, Willard et al. 2001). De cualquier manera, y dado que la distancia depende del número de taxa considerados en la comparación, a mayor diversidad de las comunidades, los umbrales serán más altos (Correa-Metrio et al. 2012a, 2012b).

Este proceso comparativo se realiza para cada muestra fósil con respecto a toda la colección de asociaciones modernas, cuanto más extenso es el set de calibración, mayor es la probabilidad de encontrar análogos modernos (Birks y Gordon 1985, Overpeck et al. 1985, Jackson y Williams 2004).

Cuando el coeficiente de disimilitud se encuentra por debajo del umbral calculado, significa que las comunidades fósil y moderna representadas por los arreglos de indicadores son similares en composición y estructura. Así, se puede considerar equivalencia entre ellas, implicando que son comunidades análogas derivadas de condiciones ambientales equivalentes, entonces se asignan los valores de los parámetros ambientales modernos a aquellas asociaciones fósiles que resultaron análogas. En ocasiones, una asociación fósil encuentra más de una comunidad análoga, en estos casos se puede elegir como mejor análogo aquella muestra con el menor coeficiente de disimilitud, o bien se puede hacer un promedio de las condiciones tomando en cuenta todos los análogos y ponderando de acuerdo con su similitud.

Si, por el contrario, el índice de disimilitud entre arreglos de indicadores es mayor que el umbral, no puede asumirse analogía entre arreglos, y por lo tanto, tampoco se puede asumir equivalencia entre condiciones ambientales. Finalmente, la

reconstrucción paleoambiental se realiza asumiendo que comunidades análogas se desarrollaron bajo condiciones ambientales iguales.

En el caso opuesto, cuando una asociación fósil no encuentra análogo en ningún registro moderno, no puede hacerse inferencia alguna sobre las condiciones ambientales y se conoce como comunidad no-análoga; lo cual significa que no hay una comunidad dentro de la colección moderna que sea lo suficientemente similar como para considerar análogas las condiciones ambientales que les dieron lugar. La detección de comunidades no-análogas es más común cuando no existe un repertorio amplio de muestras modernas que cubran gradientes ambientales amplios. No obstante, extender infinitamente la base de datos moderna no garantiza que todas las comunidades fósiles encuentren un análogo. Esto se debe a que en el pasado pudieron ocurrir condiciones (o combinaciones de éstas) que no se presentan hoy en día, y por ende comunidades que no se encuentran representadas en el espacio climático y ecológico del presente (Jackson y Williams 2004). Así, el desempeño de esta técnica tiende a disminuir cuanto más antigua es la muestra fósil, dada una mayor probabilidad de ocurrencia de condiciones ambientales y/o arreglos biológicos sin términos de comparación con el presente. Igualmente, la utilización de esta técnica resulta inadecuada o insuficiente durante episodios de inestabilidad ambiental, tales como las terminaciones o inyecciones de los glaciales, en los cuales las comunidades no se encuentran en equilibrio con el ambiente (Jackson y Overpeck 2000, Jackson y Williams 2004). Otra desventaja de MAT se presenta cuando los datos modernos están fuertemente influenciados por la acción humana, lo que genera una diferencia artificial aun cuando las condiciones climáticas no son necesariamente diferentes (Birks 2003).

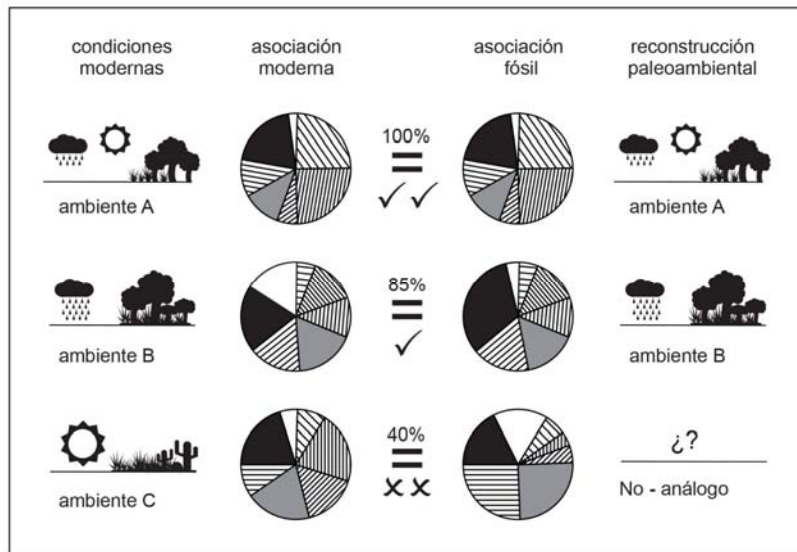


Figura 2. Metodología general de la Técnica de Análogos Modernos (MAT) para la comparación de tres ambientes modernos (izquierda) con sus respectivas asociaciones biológicas vs tres asociaciones fósiles y su posible interpretación. Las gráficas circulares representan la proporción de diferentes taxa en la asociación.

La reconstrucción de paleoambientes mediante MAT no requiere establecer un modelo complejo taxa-ambiente (Bartlein y Whitlock 1993), sino que interpreta el ambiente directamente de la asociación análoga, por esta razón es el procedimiento de reconstrucción cuantitativa que involucra menos procesos estadísticos. Entre los estudios neotropicales que utilizan este método destacan los de Correa-Metrio, Bush, et al. 2012; Correa-Metrio, Lozano-García, et al. 2012; Prange et al. 2010; entre otros.

4. Promedios Ponderados (WA)

Este método asume que cada especie ocupa un nicho diferente en el espacio ambiental y que la distribución de los organismos se comporta de manera unimodal a lo largo de un gradiente ambiental determinado. De esta forma, la máxima abundancia de un taxón, y por ende su representación en el registro fósil, se encuentra alrededor de las condiciones climáticas óptimas para su desarrollo. Así, cada observación es caracterizada por un óptimo calculado a partir de los nichos de los taxa presentes en ella. El cálculo se realiza mediante el promedio de todos los valores de la variable donde ocurre un taxón determinado, ponderado por su abundancia relativa. Por su parte el rango de tolerancia de cada taxón se calcula por medio de la desviación estándar de los mismos. A aquellos taxa con rangos estrechos de tolerancia se les puede dar un mayor peso en el análisis para mejorar la estimación. Por otro lado, las ausencias de los taxa no tienen interpretación directa ni peso en el análisis (Birks y Gordon 1985, ter Braak y Looman 1986, ter Braak et al. 1993). Para disminuir el error de predicción en este tipo de modelos conviene incluir tantos taxa como sea posible y dejar por fuera a aquellos que presenten ocurrencias raras (Cumming y Smol 1993, Birks y Lotter 1994, Quinlan y Smol 2001). En la interpretación del registro fósil se asume que aquellas muestras donde un taxón particular resulte dominante o presente su abundancia máxima, la variable ambiental asociada corresponde a aquella del valor óptimo estimado para dicho taxón (ter Braak et al. 1993). De esta manera, el método es ecológicamente razonable y ofrece funciones de transferencia a partir de entidades biológicas.

La reconstrucción de la variable x comienza con el cálculo del óptimo (U) mediante la ecuación 4.1 en n sitios para m taxa.

$$\hat{u}_k = \frac{\sum_{i=1}^n y_{ik} x_i}{\sum_{i=1}^n y_{ik}} \quad (4.1)$$

Donde \hat{u}_k es la estimación del óptimo para el taxón k , y_k es el porcentaje del taxón k en la muestra i y x_i es el valor de la variable ambiental de interés en la muestra i . A partir del óptimo se puede estimar el parámetro ambiental \hat{x}_i mediante:

$$\hat{x}_i = \frac{\sum_{k=1}^m y_{ik} \hat{u}_k}{\sum_{k=1}^m y_{ik}} \quad (4.2)$$

Como se observa el promedio de la abundancia se toma en cuenta tanto en 4.2 como en 4.3, esto genera una compresión de la variable debido a la redundancia de términos. Este efecto puede eliminarse calculando la compresión desde el set de entrenamiento, mediante una regresión lineal:

$$E(\hat{x}_i) = a_0 + a_1 x_i \quad (4.3)$$

Donde $E(\hat{x}_i)$ es la compresión, a_0 y a_1 son el intercepto y la pendiente, respectivamente de la regresión. Para obtener la estimación la variable descomprimida (\hat{X}_i), entonces se aplica la ecuación 4.4, a través de la cual se reduce el sesgo reescalando las variables después de cada estimación.

$$\hat{x}_i = \frac{x_i - a_0}{a_1} \quad (4.4)$$

A diferencia del MAT, WA demuestra buen desempeño aunque la cantidad de taxa incluidos en el análisis sea limitada, además es poco sensible a los valores extremos (ter Braak et al. 1993). No obstante, dado el efecto de compresión, tiende a sobreestimar los óptimos en el extremo inferior del gradiente y a subestimar óptimos en el extremo superior (Birks 2003). Por otro lado la eficacia de las estimaciones por medio de WA disminuye cuando los taxa presentan distribuciones muy amplias a lo largo del gradiente ambiental, o bien, cuando su distribución no está directamente ligada con el ambiente si no con la estructura ecológica, tal es el caso de los organismos generalistas u oportunistas.

Lo anterior implica que WA no considera las interacciones entre los taxa o con otras variables, pues asume que la abundancia está ligada sólo a la variable de interés y que el crecimiento de una población no afecta la proporción de las demás. Dicho supuesto se transgrede automáticamente cuando se trabaja con abundancias relativas. Otro problema se presenta cuando las entidades biológicas se encuentran integradas por más de una especie, lo que puede generar una distribución multimodal con más de un óptimo; éste escenario es común en análisis palinológicos (Birks 2003).

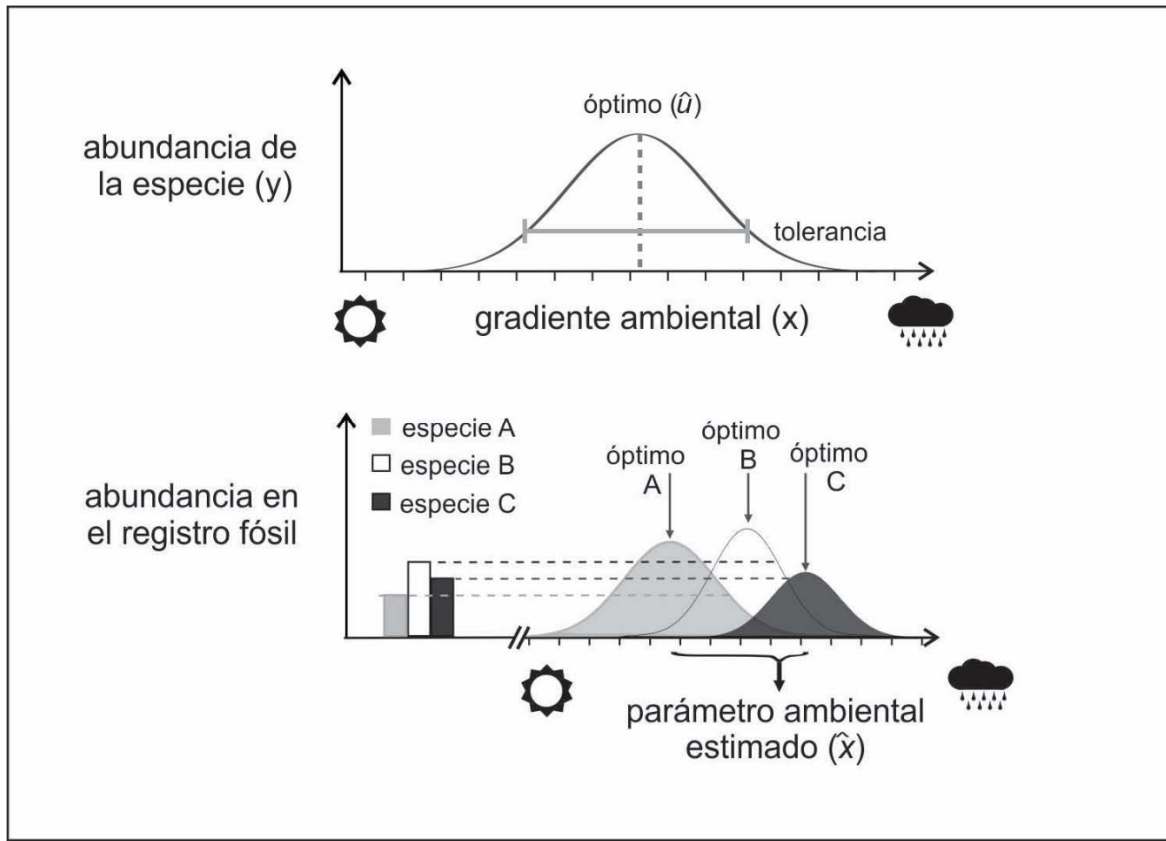


Figura 3. Representación de una reconstrucción mediante Promedios Ponderados (WA), nótese que la estimación del parámetro ambiental se encuentra más cercana al óptimo del taxón más cercano a su abundancia máxima.

5. Promedios Ponderados - Mínimos Cuadrados Parciales (WA-PLS)

Este método, combina la idea de WA y la complementa con una regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS), es decir, realiza una estimación por el mismo procedimiento que WA y extrae componentes adicionales de la varianza residual. Esto modifica los óptimos de la distribución, especialmente los de taxa abundantes con mayores residuales. WA-PLS está diseñado para trabajar con una gran cantidad de taxa, incluso cuando su abundancia es de cero en muchas de las muestras. Maximiza la covarianza de los componentes de la función que tienen una relación lineal entre sí y obtiene varios componentes mediante iteraciones del proceso. Es un método ecológicamente más razonable porque implica que hay más factores que determinan la distribución de los taxa, como ocurre en la naturaleza y es menos estricto en lo que se refiere a la distribución unimodal (ter Braak et al. 1993, Birks 2003).

Su metodología se resume en los siguientes pasos, y dado que es un proceso iterativo, los pasos 2-7 se repiten para cada componente.

Paso 0: Se inicia centrando la variable ambiental x_i sustrayéndole el promedio ponderado (ecuación 5.1).

$$x_i = x_i - \sum_i^n y_i + \frac{x_i}{y_{++}} \quad (5.1)$$

Paso 1: El valor ponderado x_i se toma como el puntaje inicial del sitio r_i .

Paso 2: Se calcula un nuevo óptimo u_k^* (puntaje de la especie) ponderando el puntaje del lugar (ecuación 5.2).

$$u_k^* = \sum_{i=1}^n y_{ik} \frac{r_i}{y_{++} + k} \quad (5.2)$$

Paso 3: Con el óptimo actualizado, se calculan nuevos puntajes de sitios r_i (ecuación 5.3)

$$r_i = \sum_{k=1}^m y_{ik} \frac{u_k^*}{y_{i+}} \quad (5.3)$$

Paso 4 (sólo a partir del 2do componente): Se ortogonalizan los nuevos puntajes de sitios r_i ; para lo cual se denotan como f_i los puntajes del componente anterior y se calculan los grados de libertad v (ecuación 5.4) para calcular los nuevos r_i ($r_{i,nuevo}$) (ecuación 5.5). Este paso se realiza para cada uno de los componentes anteriores para eliminar la correlación entre componentes.

$$v = \sum_{i=1}^n y_i + r_i \cdot \frac{f_i}{y_{++}} \quad (5.4)$$

$$r_{i,nuevo} = r_{i,anterior} - v f_i \quad (5.5)$$

Paso 5: los nuevos puntajes r_i se estandarizan mediante el centroide z de los sitios (ecuación 5.6) y se calcula la varianza s^2 (ecuación 5.7) para actualizar nuevamente los puntajes r_i (ecuación 5.8).

$$z = \sum_{i=1}^n y_i + \frac{r_i}{y_{++}} \quad (5.6)$$

$$s^2 = \sum_{i=1}^n y_i + \frac{(r_i - z)^2}{y_{++}} \quad (5.7)$$

$$r_{i,nuevo} = \frac{(r_{i,anterior} - z)}{s} \quad (5.8)$$

Paso 6: Los puntajes estandarizados se consideran entonces como el nuevo componente.

Paso 7: Se realiza una regresión de la variable ambiental x_i sobre cada uno de los componentes obtenidos hasta la iteración actual usando los ponderados (y_i / y_{++}) en la regresión y se toman los valores ajustados como estimados actualizados (\hat{x}_i).

Regresa al paso 2 para componentes subsecuentes. Nótese que una regresión por medio de PLS con un solo componente equivale a un modelo de WA.

En la práctica, se ha observado que los taxa más abundantes y aquellos con más residuales son más propensos a tener óptimos actualizados (ter Braak 1993, ter Braak et al. 1993). Para evaluar cuál es el número óptimo de componentes a incluir en los modelos de WA-PLS se realiza comúnmente una validación cruzada dejando uno fuera, esto significa correr el modelo con $n-1$ muestras y observar su desempeño para predecir el dato que se quedó fuera. Las diferencias entre los valores predichos y los observados, se elevan al cuadrado, se promedian y se obtiene la raíz cuadrada, a esto se le conoce como raíz del cuadrado medio del error (RCME), y es una medida del poder predictivo de un modelo.

La ventaja principal de WA-PLS es que produce modelos con un menor RCME el cual se puede ver reducido hasta en 0.5 con respecto a modelos producidos mediante WA. Así mismo produce menos sesgo debido a que elimina el efecto de borde relacionado con los patrones en los residuales a medida que incorpora esta información en los componentes subsecuentes; conforme el número de componentes aumenta, la RCME disminuye hasta convertirse en cero cuando el número de componentes iguala al número de muestras. No obstante, el valor de predicción se pierde cuanto más estricto se hace el modelo. Lo anterior representa la mayor desventaja del método, puesto que requiere de una base de datos independiente para evaluar el número óptimo de componentes en el modelo. Una alternativa comúnmente usada es determinar el número de componentes útiles como aquellos que representen una reducción del 5% o más del RCME (ter Braak et al. 1993, Birks 1995, 1998).

WA-PLS es un método muy utilizado en reconstrucciones paleoambientales en el neotrópico; se destaca su uso en bioindicadores acuáticos como ostrácodos (Perez et al. 2011, Massaferro y Larocque-Tobler 2013, Massaferro et al. 2014) y polen (Tonello et al. 2009, Schäbitz et al. 2013).

6. Modelo de Regresión Ponderada Local (LOESS) y Arreglos Sintéticos (Sy-As)

Este método produce modelos de distribución de los taxa a lo largo de un gradiente ambiental mediante regresiones de LOESS y luego compara las muestras fósiles con las estimaciones producidas en una aproximación similar a la de MAT. Posee un gran potencial en estudios ecológicos, pues modela el nicho ambiental de las especies al tiempo que considera la interacción entre taxa (Correa-Metrio et al. 2012a). El primer paso es seleccionar los taxa que integrarán en el modelo, dado que para cada taxón se ajusta un modelo de distribución a lo largo de la variable de interés, estos deben estar bien representados a lo largo de todo el gradiente, deben excluirse los taxa raros ya que la el déficit de información imposibilita el ajuste del modelo. Posteriormente, se ajustan curvas de regresión para cada taxón seleccionado mediante el modelo de regresión ponderada local (LOESS, a veces también abreviada como LOWESS). Este método combina la sencillez de la regresión lineal por mínimos cuadrados con la flexibilidad de la regresión no-lineal por medio de ajustes dentro de subconjuntos de datos que se describen de forma independiente. Así, no se genera una función global sino una serie de regresiones aditivas que modelan el comportamiento de los taxa a lo largo del gradiente ambiental de interés (Cleveland y Devlin 1988, Correa-Metrio et al. 2012a). Otros métodos se pueden utilizar para modelar la abundancia de los taxa (e.g. modelos aditivos generalizados), no obstante, se recomienda el uso de LOESS por su simpleza.

Para realizar la regresión, la metodología LOESS supone una relación entre las variables dependientes y_i en este caso los bioindicadores y x_i las variables independientes (ambientales) de tal forma que

$$y_i = g(x_i) + \varepsilon_i \quad (6.1)$$

Donde g corresponde a la función de suavizamiento (usualmente un polinomio de primer o segundo grado) y ε_i indica una dispersión residual con media igual a cero. Para estimar el polinomio local $\hat{g}(x)$ para cualquier valor de x en un espacio m -dimensional de variables ortogonales (taxa), se determina q , un número entero tal que $1 < q < n$. El estimado de \hat{g} en x utiliza la observación q cuyos valores de x_i son los más cercanos a x ; a esto lo designamos como sección local o vecindario en el espacio de variables. Cada punto en el vecindario es ponderado de acuerdo con su distancia a x , los puntos más cercanos tienen un peso mayor. Posteriormente se ajusta una función lineal o cuadrática de la variable independiente usando los mínimos cuadrados ponderados con estos pesos; entonces, $g(x)$ es tomado como el valor de la función ajustada a x . Esto se hace para cada valor de x al que queremos estimar $g(x)$.

El tamaño del vecindario o ancho de banda α se determina mediante una función de distancia ρ , (puede ser euclidiana para variables geográficas, u otros métodos de distancia como camberra o manhattan) y una función de peso $W(u)$, para lo que comúnmente se utiliza la función de tricubo (ecuación 6.2).

$$W(u) = (1 - u^3)^3 \quad (6.2)$$

Para valores $0 \leq u \leq 1$. Entonces, se pondera para la observación (y_i, x_i) mediante la ecuación 6.3.

$$w_i(x) = W(\rho(x, x_i) / d(x)) \quad (6.3)$$

Donde $w_i(x)$ como función de i , toma valores máximos cuando x_i se aproxima a x , y decrece mientras x_i aumenta su distancia con respecto a x hasta convertirse en cero para el q -avo más cercano x_i a x . El término $d(x)$ representa la distancia del q -avo más cercano x_i a x . El tamaño del vecindario α al cual se le ajusta una función (lineal o cuadrática) se calcula mediante la ecuación 6.4; para q = número de puntos en el vecindario y n = número de observaciones totales.

$$\alpha = \frac{q}{n} \quad (6.4)$$

Donde α es, entonces, la fracción de los puntos totales incluidos en el vecindario. Conforme α se incrementa $\hat{g}(x)$ es más suave. Por último, se estima el error de la regresión mediante la RCME.

Una vez determinados los parámetros de la regresión (α y \hat{g}) se modela cada taxón y se evalúa su sensibilidad ante la variable de interés. Aquellos taxa con distribuciones estrechas (*i.e.* baja dispersión) y distribución relativamente normal de residuales se consideran sensibles y se seleccionan para formar parte de la asociación teórica de referencia. Esta selección es propiamente un arreglo sintético de taxa, ya que no es una representación de las distribuciones observadas sino un modelo que simula la ocurrencia de los taxa incluidos en una proporción aproximada para diferentes intervalos del gradiente (Correa-Metrio et al. 2012a). Finalmente, la interpretación del registro fósil se hace mediante la comparación de la asociación biológica en el registro fósil con las diferentes asociaciones teorizadas para los distintos intervalos del gradiente de interés, de forma similar al procedimiento de MAT. Se recomienda el uso de la distancia de camberra y no de cuerda cuadrada como en MAT, debido a que asigna el mismo peso a todas las especies, esto es preferible en este caso ya que se han eliminado las presencias raras (Prentice 1980, Overpeck et al. 1985, Legendre y Legendre 1998, Gavin et al. 2003).

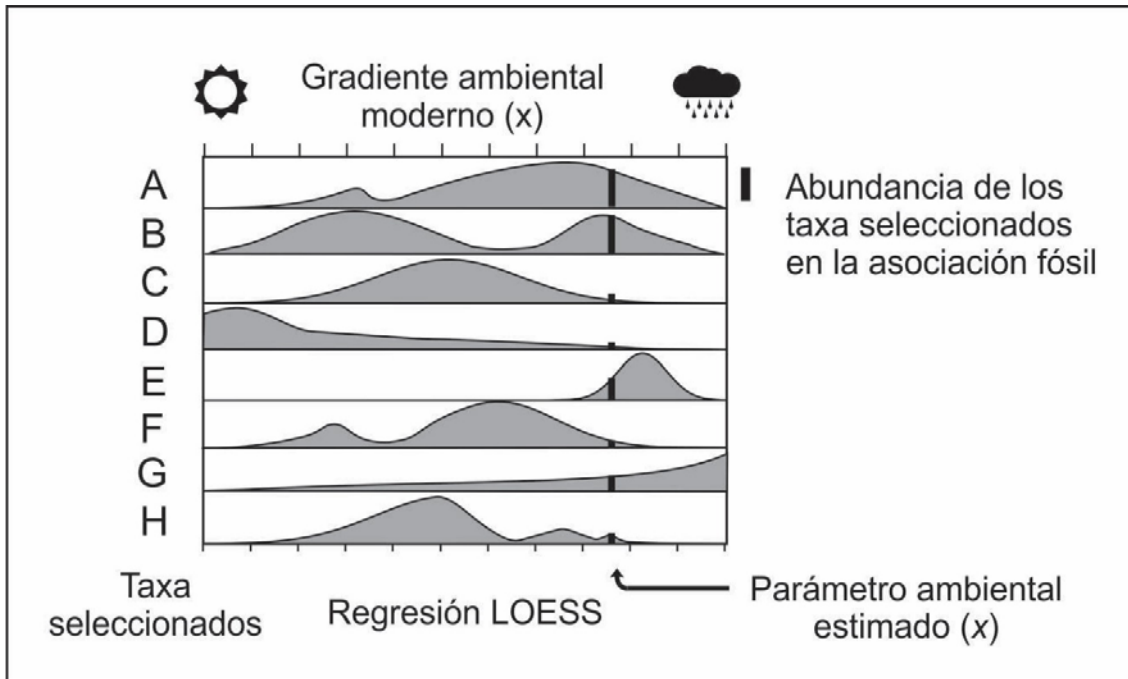


Figura 4. Modelos de LOESS de taxa seleccionados y su comparación con la abundancia de los taxa en el registro fósil a lo largo del gradiente ambiental (modificado de Correa Metrio et al. 2012a).

La reconstrucción ambiental mediante SyAs reduce el ruido al preseleccionar los taxa más sensibles con una clara asociación a la variable de interés. Aunque éste método se desarrolló para indicadores polínicos, su aplicación es extensible para toda clase de bioindicadores (Correa-Metrio et al. 2012a). Al comparar este método con WA-PLS se han observado tendencias similares en las reconstrucciones, no obstante, el RCME se reduce utilizando SyAs en un 2.4% y 2.6% en las reconstrucciones de temperatura y precipitación en la península de Yucatán (Correa-Metrio et al. 2012a).

7. Aplicación de los métodos mediante R (software)

Como se observa en las secciones anteriores, el empleo de cualquiera de los métodos de reconstrucción cuantitativa requiere de una serie de iteraciones que evalúan cada registro fósil en función de las relaciones modernas entre taxa y ambiente. Por esta razón su aplicación manual o mediante hojas de cálculo resulta extenuante y abre la puerta a una fuente de error (propio de la condición humana). Afortunadamente, existe una colección de funciones dentro del programa R ("R Development Core Team" 2009) que desarrollan cada una de las metodologías descritas a partir de un arreglo específico de los datos (Tabla 1).

Tabla 1. Funciones de reconstrucción paleoambiental cuantitativa en R (R Development Core Team 2009).

Objeto	Descripción
ambiente	Base de datos o vector con los parámetros ambientales actuales de n sitios con los que se desea calibrar la función.
moderno	Base de datos con la abundancia de m taxa (columnas) en n sitios (filas).
Fosil	Base de datos con la información de los m taxa (columnas) a lo largo del registro fósil z (filas).
Edad	Un vector de extensión z con las edades correspondientes al registro fósil.
a, b, c	Mínimo, máximo e intervalo del gradiente ambiental (respectivamente) para el cual se evaluará la regresión (LOESS).
Aplicación de las funciones y obtención reconstrucción de los parámetros	
MAT Requiere paquete: "rioja" (Juggins 2015)	require(rioja) MAT(ambiente, moderno, dist.method="sq.chord")->mat.ej predict(mat.ej, newdata=fosil)
WA Requiere paquete: "rioja" (Juggins 2015)	require(rioja) WA(moderno, ambiente)->wa.ej predict(wa.ej, newdata = fosil)
SyAs Requiere paquete: "paleoMAS" (Correa-Metrio et al. 2012c)	require(paleoMAS) akaike.all(ambiente, moderno, interval = c(a,b,c))->syas.ej syas(ambiente, moderno, syas.ej, fosil, edad, delta = c)

8. Agradecimientos

En especial al Posgrado en Ciencias de la Tierra, UNAM, Instituto de Geología, UNAM, y al Programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IA101515, IA100714-2.

9. Referencias bibliográficas

- Bartlein P.J., Whitlock C. 1993. Spatial variations of Holocene climatic change in the Yellowstone region. *Quaternary Research* 39:231–238.
- Birks H.J.B. 1995. Quantitative palaeoenvironmental reconstructions. Pages 161–254 in D. Maddy, J. S. Brew, editors. *Statistical Modelling of Quaternary Science Data*. Hodder Education, Cambridge.
- Birks H.J.B. 1998. Numerical tools in palaeolimnology- progress, potentialities, and problems. *Journal of Paleolimnology* 20:307–322.
- Birks H.J.B. 2003. Quantitative palaeoenvironmental reconstructions from Holocene biological data. Pages 107–123 in A. Mackay, R. Battarbee, H. J. B. Birks, F. Oldfield, editors. *Global change in the Holocene*. London.
- Birks H.J.B. 2012. Overview of numerical methods in paleolimnology. Pages 19–92 in H. J. B. Birks, A. L. Lotter, S. Juggins, J. P. Smol, editors. *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments*. Springer, London.

- Birks H.J.B., y Gordon A.D. 1985. Numerical Methods in Quaternary Pollen Analysis. Academic Press, London.
- Birks H.J.B., Heiri O., Seppä H., Bjune A.E. 2010. Strengths y weaknesses of quantitative reconstructions based on Late-Quaternary biological proxies. *The Open Ecology Journal* 3:68–110.
- Birks H.J.B., Line J.M., Juggins S., Stevenson A.C., ter Braak C.J.F. 1990. Diatoms and pH reconstruction. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 327:263–278.
- Birks H.J.B., Lotter A.L. 1994. The impact of the Laacher See Volcano (11000 yr BP) on terrestrial vegetation and diatoms. *Journal of Paleolimnology* 11:313–322.
- ter Braak C.J.F. 1993. Weighted averaging partial least squares regression (WA-PLS): an improved method for reconstructing environmental variables from species assemblages. *Hydrobiologia* 269-270:485–502.
- ter Braak C.J.F., Juggins S., Birks H.J.B., van der Voet H. 1993. Weighted averaging partial least squares regression (WA-PLS): definition and comparison with other methods for species-environment calibration. Chapter 25 in: Pages 525–560 in G. P. Patil and C. R. Rao, editors. *Multivariate Environmental Statistics*. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam.
- ter Braak C.J.F., Looman C.W.N. 1986. Weighted averaging, logistic regression and the Gaussian response model. *Vegetatio* 65:3–11.
- Calcote R. 1988. Identifying forest stand types using pollen from forest hollows. *The Holocene* 8:423–432.
- Cheddady R., Yu G., Guiot J., Harrison S.P., Prentice I.C. 1997. The climate of Europe 6000 years ago. *Climate Dynamics* 13:1–9.
- Cleveland W.S., Devlin S.J. 1988. Locally Weighted Regression: An Approach to Regression Analysis by Local Fitting. *Journal of the American Statistical Association* 83:596–610.
- Correa-Metrio A., Bush M.B., Cabrera K.R., Sully S., Brenner M., Hodell D.A., Escobar J., Guilderson T. 2012a. Rapid climate change and no-analog vegetation in lowland Central America during the last 86,000 years. *Quaternary Science Reviews* 38:63–75.
- Correa-Metrio A., Lozano-García S., Xelhuantzi-López S., Sosa-Nájera S., Metcalfe S.E. 2012b. Vegetation in western Central Mexico during the last 50 000 years: Modern analogs and climate in the Zacapu Basin. *Journal of Quaternary Science* 27:509–518.
- Correa-Metrio A., Urrego D.H., Cabrera K.R., Bush M.B. 2012c. paleoMAS: Paleoeological Analysis. The R Project for Statistical Computing.
- Cumming B.F., Smol J.P. 1993. Development of diatom-based salinity models for paleoclimatic research from lakes in British Columbia (Canada). Pages 179–196 in H. van Dam, editor. *Twelfth International Diatom Symposium*. Springer.
- Gavin D.G., Oswald W.W., Wahl E.R., Williams J.W. 2003. A statistical approach to evaluating distance metrics and analog assignments for pollen records. *Quaternary Research* 60:356–367.
- Imbrie J., Kipp N.G. 1971. A new micropaleontological method for quantitative paleoclimatology: Application to a late Pleistocene Caribbean core. Pages 71–181 in K. K. Turekian, editor. *The Late Cenozoic Glacial Ages*. Yale University Press, New Haven.

- Imbrie J., Webb T. 1981. Transfer Functions: Calibrating Micropaleontological Data in Climatic Terms. Pages 125–134 in A. Berger, editor. *Climatic Variations and Variability: Facts and Theories*. Springer Netherlands.
- Jackson S.T., Overpeck J.T. 2000. Responses of plant populations and communities to environmental changes of the late Quaternary environmental changes of the late Quaternary 26:194–220.
- Jackson S.T., Williams J.W. 2004. Modern analogs in Quaternary paleoecology: Here today, gone yesterday, gone tomorrow? *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 32:495–537.
- Juggins S. 2015. rioja: Analysis of Quaternary Science Data.
- Legendre P., Legendre L. 1998. Numerical ecology. *Numerical Ecology Second English Edition* 20:870.
- Massaferro J., Larocque-Tobler I. 2013. Using a newly developed chironomid transfer function for reconstructing mean annual air temperature at Lake Potrok Aike, Patagonia, Argentina. *Ecological Indicators* 24:201–210.
- Massaferro J., Larocque-Tobler I., Brooks S.J., Vandergoes M., Dieffenbacher-Krall A., Moreno P. 2014. Quantifying climate change in Huelmo mire (Chile, Northwestern Patagonia) during the Last Glacial Termination using a newly developed chironomid-based temperature model. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 399:214–224.
- Overpeck J.T., Webb T., Prentice I.C. 1985. Quantitative interpretation of fossil pollen spectra: Dissimilarity coefficients and the method of modern analogs. *Quaternary Research* 23:87–108.
- Perez L., Frenzel P., Brenner M., Escobar J., Hoelzmann P., Scharf B., Schwalb A. 2011. Late Quaternary (24–10 ka BP) environmental history of the Neotropical lowlands inferred from ostracodes in sediments of Lago Petén Itzá, Guatemala. *Journal of Paleolimnology* 46:59–74.
- Prange M., Steph S., Schlutz M., Keigwin L.D. 2010. Inferring moisture transport across Central America: Can modern analogs of climate variability help reconcile paleosalinity records? *Quaternary Science Reviews* 29:1317–1321.
- Prentice I.C. 1980. Multidimensional scaling as a research tool in Quaternary Palynology: A review of theory and methods. *Review of Palaeobotany and Palynology* 31:71–104.
- Quinlan R., Smol J.P. 2001. Setting minimum head capsule abundance and taxa deletion criteria in chironomid-based inference models. *J. of Paleolimnology* 26:327–342.
- R Development Core Team. 2009. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Schäbitz F., Wille M., Francois J.-P., Haberzettl T., Quintana F., Mayr C., Lüke A., Ohlendorf C., Mancini M.V., Paez M.M., Prieto A.R., Zolitschka B. 2013. Reconstruction of palaeoprecipitation based on pollen transfer functions – the record of the last 16 ka from Laguna Potrok Aike, southern Patagonia. *Quaternary Science Reviews* 71:175–190.
- Tonello M.S., Mancini M.V., Seppä H. 2009. Quantitative reconstruction of Holocene precipitation changes in southern Patagonia. *Quaternary Research* 72:410–420.
- Von Post L. 1924. Das genetische System der organogenen Bildungen Schwedens. *Comité international de Pédologie* 22:287–304. Willard D.A., Weimer L.M., Riegel W.L. 2001. Pollen assemblages as paleoenvironmental proxies in the Florida Everglades. *Review of Palaeobotany and Palynology* 113:213–235.