



Universidad de Concepción

Facultad de Ciencias Ambientales
Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales mención Sistemas Acuáticas
Continetales

Título

Reconstrucción de eventos de floraciones de cianobacterias durante los últimos 1000 años basado en Pigmentos Sedimentarios y ADN: Buscando evidencias de eventos climáticos y alteraciones Antrópicas



Tesis para optar al grado de
**Doctora en Ciencias Ambientales con mención en Sistemas Acuáticos
Continetales**

Isis Yelena Montes Reyes

CONCEPCIÓN-CHILE
2022



Universidad de Concepción

Facultad de Ciencias Ambientales
Programa de Doctorado en Ciencias Ambientales mención Sistemas Acuáticas
Continetales

Título

**Reconstrucción de eventos de floraciones de cianobacterias
durante los últimos 1000 años basado en Pigmentos
Sedimentarios y ADN: Buscando evidencias de eventos
climáticos y alteraciones Antrópicas**



Tesis para optar al grado de
**Doctora en Ciencias Ambientales con mención en Sistemas Acuáticos
Continetales**

Isis Yelena Montes Reyes

Profesor Guía: Dr. Roberto Urrutia Pérez

Dpto. de Sistemas Acuáticos, Facultad de Ciencias Ambientales

Universidad de Concepción

CONCEPCIÓN-CHILE

2022

Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado

La Tesis de Doctorado en Ciencias Ambientales con Mención en Sistemas Acuáticos continentales titulada “Reconstrucción de eventos de floraciones de cianobacterias durante los últimos 1000 años basado en Pigmentos Sedimentarios y ADN: Buscando evidencias de eventos climáticos y alteraciones Antrópicas” de la Sra. Isis Yelena Montes Reyes realizada bajo la Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad de Concepción, ha sido aprobada por la siguiente comisión de evaluación:

Dr. Roberto Enrique Urrutia Pérez
Profesor Guía
Facultad de Ciencia Ambientales
Universidad de Concepción

Dra. Nathalie Fagel
Profesora Co-Guía
Evaluadora Externa
Universidad de Liege-Bélgica

Dr. Oscar Parra Barrientos
Miembro Comité de Tesis
Facultad de Ciencias Ambientales
Universidad de Concepción



Dr. Jorge Rojas Hernández
Miembro Comité de Tesis
Facultad de Ciencias Ambientales
Universidad de Concepción

Dra. Denisse Álvarez Sanhueza
Evaluadora Externa
Facultad de Ciencias
Universidad Santo Tomás

Concepción-Chile

2022

A Dios, Mi Familia y Amigos



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por la fortaleza que me brindo para asumir este reto y por darme un esposo y una hija maravillosos (Andy y Nina), con quien hemos formado un hogar de cooperación, respeto y confianza, donde la unión nos ha permitido alcanzar las metas que deseamos.

A mis padres y hermanos, quienes han potenciado y apoyado este importante paso académico y donde los principios y valores han sido una pieza clave en mi formación personal y espiritual.

Agradezco enormemente a mi Profesor guía Roberto Urrutia, quien dedicó tiempo para apoyarme en este proyecto y en mi formación académica con mucha rigurosidad, además de las orientaciones acertadas, consejos prácticos y apoyo incondicional en todo momento, su gran calidad humana, su especialidad y nobleza con mi familia y principalmente por el cariño hacia mi hija, a quien tengo un gran respeto y un enorme cariño. Al Profesor Oscar Parra, quien me brindó una cátedra muy especial que aportó en mi vida académica y personal, sus consejos siempre oportunos y por brindarme su amplio conocimiento en el mundo de las ciencias ambientales. Agradezco de manera especial, al Profesor Fernando Torrejón, por sus opiniones en la discusión de los trabajos, sus consejos y palabras de ánimo, a quien quiero muchísimo por su amabilidad y don de gentes. A Denisse Álvarez, por su excelente disposición y apoyo, de quien aprendí diversas técnicas y métodos en el laboratorio de paleolimnología. Muy agradecida con el Profesor Ricardo Figueroa, quien con sus conocimientos, cordialidad y consejos fueron también una pieza importante para culminar esta meta. A la Profesora Rania Tzoraki (University of Aegean, Grecia), quien con su firmeza, ideas y amistad me animó para continuar. A los Profesores Evelyn Habbit y Octavio Rojas por su enorme apoyo, paciencia y comprensión.

A todo el personal técnico de laboratorio del Centro EULA, por todo el aprendizaje y cariño recibido durante los análisis de laboratorio, son un personal extraordinario, talentosos y con mucha expertís. A todos los amigos auxiliares, personal administrativo de la Facultad de Ciencias Ambientales quienes animaban y alegraban nuestro vivir en Chile querido, son personas realmente excepcionales. Andreíta Zambrano, tan amable y querida, por su apoyo en las diversas actividades académicas; Yely Ambiado, quien siempre estuvo pendiente de nosotros como familia y de las actividades del colegio de Nina. A mis compañeros de generación quienes construimos una amistad entrañable, especialmente a Valeska San Martín, Winfred Espejo, Max Troncoso y su linda familia, a quienes agradezco sus atenciones, preocupaciones y especialidades, de quienes aprendí tradiciones y costumbres de Chile como para no olvidarlo jamás. De igual manera, un enorme cariño para María José Climent (Pepa) y Loretto Arriagada amistades preciosas que atesoro mucho, a María Elisa Díaz (Kichy) y Mauricio Quiroz, amistades muy especiales y sinceras. También, agradezco muy especialmente a

Gustavo Díaz y Alessandra Perfetti quienes son parte de este proceso y mi amigo cubano Arnaldo Evaristo Collazos, con un corazón y gran sabiduría.

Mi cariño y agradecimiento especial a la familia San Martín, que nos acogieron y nos brindaron un espacio en su hogar, al Tío David, la Tía Mariana, Fabian, Davito, quienes fueron bellísimas personas, cariñosas, y empáticas, que compartieron con nosotros, además de habernos regalado momentos divertidos e inolvidables. Los echo mucho de menos y los queremos mucho.

A la Señora Lily Tonioni, Anita y toda su preciosa familia quienes estuvieron pendientes en todo momento desde nuestros inicios hasta el final, por sus consejos, apoyo emocional y espiritual, por su cariño y principalmente por haber marcado positivamente la vida de Nina, siempre la recuerdo y extraño con todo mi corazón.

A los Profesores Jorge Rojas Hernández y Gunhild Hansen-Rojas, una pareja extraordinaria, quienes nos han apoyado y brindado consejos, de quienes tengo un gran cariño y admiración. A la Profesora Nathalie Fagel, por recibirme en su laboratorio en Liège, Bélgica, por haber estado pendiente de mi trabajo, por el tiempo dedicado en revisiones, correcciones y consejos, además de ser una persona excepcional, sencilla y con gran conocimiento. A Meriam El Ouahabi, con quien desarrolle discusiones interesantes y quien aportó mucho para mis trabajos, la admiro por su capacidad y talento, fue fácil quererla, agradezco su amistad y enorme apoyo. Al profesor Elie Verleyen, de quien aprendí muchísimo, sus aportes influenciaron positivamente este trabajo, mi respeto y admiración por toda la gestión durante los análisis en Ghent, Bélgica.

A mis amigos de UNAH TEC Daní en Honduras, Raúl Orlando Figueroa, Samuel Sandoval y Veneranda Gonzales que estuvieron pendientes de nuestros avances y que en momentos difíciles me aconsejaron, animaron y me han brindado una amistad incondicional. A Luis Fiallos, gracias millones por su apoyo incondicional sin importar las horas, siempre con una gran voluntad de servir y quien es parte de esta culminación.

Agradezco a las Becas de Desarrollo Profesionalizante UNAH Honduras, al Programa de Formación de Capital Humano Avanzado de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID, antes CONICYT – No. 21161136), al Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y Ganadería (CRHIAM) del proyecto ANID/FONDAP/15130015 y las becas Wallonie Bruxelles International por la gestión financiera que han hecho posible el desarrollo de diversos análisis, estadías y publicaciones del presente trabajo.

A todas aquellas amistades y familiares que me acompañaron con sus buenos deseos y bendiciones y que no he podido mencionar en este apartado, mis cariños sinceros y mi agradecimiento infinito.

RESEÑA CURRICULUM VITAE

Isis Yelena Montes Reyes

2022: Doctorado en Ciencias Ambientales con Mención en Sistemas Acuáticos Continentales. Universidad de Concepción (UdeC). Chile.

2008: Master en Desarrollo Local y Turismo. Universidad Tecnológica Centroamericana (UNITEC). Honduras

2002: Licenciada en Biología con énfasis en Acuáticas. Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH). Honduras.

Diplomados

2021 Diplomado en Adaptación al Cambio Climático y Gestión de Riesgo ante Desastre. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano (EAP-Zamorano) y la Agencia Suiza para el Desarrollo y Cooperación (COSUDE). Honduras

2013: Diplomado en Investigación Científica. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. UNAH. Honduras.

2013: Diplomado Superior en Desarrollo Económico Local; FLACSO y Fundación DEMUCA. Honduras.

2005: Diplomado de Inglés como Segunda Lengua. Centro Hondureño de Lenguas Extranjeras (CEHLE) e Instituto Abraham Lincoln. Honduras.

2004: Diplomado en Administración Gerencial. Fundación Hondureña para el Desarrollo de la Micro, Pequeña y Mediana Empresa (FUNHDE) y Banco Centroamericana de Integración Económica (BCIE). Honduras.

2003: Diplomado en Formación Pedagógica en Educación Superior, Universidad Pedagógica Nacional Francisco Morazán (UPNFM). Honduras.

Publicaciones relacionadas con el Proyecto de Doctorado

Late Holocene paleoenvironmental evolution of two coastal lakes in Mediterranean Chile and its implications for conservation planning.

Isis-Yelena Montes, Andy Banegas-Medina, Nathalie Fagel, Meriam El Ouahabi, Elie Verleyen, Denisse Alvarez, Fernando Torrejón, Sabine Schmidt, Gilles Lepoint, Gustavo Diaz, Pablo Pedreros, and Roberto Urrutia. *Appl. Sci.* **2021**, *11*(8), 3478; <https://doi.org/10.3390/app11083478>

Environment and watershed perturbations based on scanning reflectance spectroscopy and sedimentary pigments in two coastal lakes

Isis-Yelena Montes, Andy Banegas-Medina, Denisse Alvarez, Fernando Torrejón and Roberto Urrutia
Quaternary, Submitted (1571752).

Publicaciones no relacionadas con el Proyecto de Doctorado

Hydrological, Environmental and Taxonomical Heterogeneity during the Transition from Drying to Flowing Conditions in a Mediterranean Intermittent River.

Andy Banegas-Medina, **Isis-Yelena Montes**, Ourania Tzoraki, Luc Brendonck, Tom Pinceel, Gustavo Diaz, Pedro Arriagada, Jose-Luis Arumi, Pablo Pedreros and Ricardo Figueroa.
Biology **2021**, *10*(4), 316; <https://doi.org/10.3390/biology10040316>

Resistance and resilience traits composition of the aquatic invertebrates community in a mediterranean intermittent river

Andy Banegas-Medina, **Isis-Yelena Montes**, Ourania Tzoraki, Ricardo Figueroa
Hydrobiology. Submitted (1571769).

Effects of climatic factors in the prevalence of Dengue fever in Eastern Honduras

Isis-Yelena Montes, Luis Fiallos-Alvarado, Sobeida Serrano, Lindsay Sanchez, Andy Banegas-Medina
Environmental Health Insight (en revisión).

Participación en eventos científicos

Montes, I.Y. Banegas-Medina, A., Fagel, N., El Ouahabi, M., Alvarez, D., Torrejón, F., Urrutia, R. Determinación de procesos de eutroficación mediante espectroscopia de reflectancia en dos lagos costeros del mediterráneo Chileno. Congreso de Investigación Científica UNAH 2022 Tegucigalpa, Honduras. (por enviar).

Montes, I.-Y., Banegas-Medina, A., Verleyen, E., Fagel, N., El Ouahabi, M., Alvarez, D., Torrejón, F., Schmidt, S., Urrutia, R. Herramientas paleolimnológicas y su aplicación ante el cambio climático en ecosistemas acuáticos. 1er Congreso Virtual de Investigación Científica UNAH. Tegucigalpa, Honduras. Julio. 2020.

Montes, I.-Y., Banegas-Medina, A., Verleyen, E., Fagel, N., El Ouahabi, M., Alvarez, D., Torrejón, F., Schmidt, S., Urrutia, R. Reconstrucción de la productividad primaria en el Holoceno Tardío: implicaciones del cambio de uso de suelo y cambio climático. X Congreso Cubano de Meteorología. La Habana, Cuba. Diciembre 2019.



Montes, I.-Y. Paleolimnología: respuestas de los ecosistemas acuáticos a eventos ambientales y climáticos en el tiempo. V Jornada de Investigación Científica UNAH-TEC-DANLÍ. Danlí, noviembre 2019.

Banegas-Medina A., **Montes I.-Y.**, Tzoraki O., Brendonck L., Pinceel T., Diaz G., Arriagada P., Arumi J.-L., Figueroa R. Hydrological, environmental and taxonomical heterogeneity during the transition from drying to flowing conditions in a mediterranean intermittent river. 4th International Congress on Applied Ichthyology, Oceanography and Aquatic Environment Hydromedit 2021. Grecia. Noviembre 2021.

Banegas-Medina, **A. Montes I.-Y.**, Tzoraki O., Brendonck L., Pinceel T., Diaz G., Arriagada P., Arumi J.-L., Figueroa R. Importancia de los Ríos Intermitentes en respuesta al cambio climático: análisis de resiliencia en un río intermitente Mediterráneo. 1er Congreso Virtual de Investigación Científica UNAH. Tegucigalpa, Honduras. Julio. 2020.

Banegas-Medina, A. **Montes I.-Y.**, Tzoraki O., Brendonck L., Pinceel T., Diaz G., Arriagada P., Arumi J.-L., Figueroa R. Estudio de la variabilidad hidrológica, ambiental y taxonómica en un río intermitente del Mediterráneo Chileno como un indicador de los posibles efectos del cambio climático. X Congreso Cubano de Meteorología. La Habana, Cuba. Diciembre 2019.

Banegas-Medina A., **Montes I.-Y.**, Tzoraki O., Brendonck L., Pinceel T., Diaz G., Arriagada P., Arumi J.-L., Figueroa R. Variation of invertebrates' communities of an intermittent chilean river. 3th International Congress on Applied Ichthyology, Oceanography and Aquatic Environment Hydromedit 2018. Grecia. Noviembre 2018.



Pasantías o estancias académicas

Laboratorio de U.R. Argiles, Gèochimie et Environnements Sédimentaires (AGEs) Département de Géologie, bajo la supervisión de la Profesora Nathalie Fagel, Université de Liège, Bélgica. Septiembre 2016 a Marzo 2017.

Laboratoire d'Ecologie trophique et isotopique, Département de Biologie, Ecologie et Evolution, Freshwater and Oceanic science Unit of reSearch (FOCUS), bajo la supervisión del Profesor Gilles Lepoint, Université de Liège, Bélgica. Septiembre 2016 a Marzo 2017.

Laboratory of Protistology and Aquatic ecology, bajo la supervisión del Profesor Elie Verleyen, University de Ghent, Bélgica. Septiembre 2017 a Marzo 2018.
Centre for protein Engineering (CIP), bajo la supervisión de Annick Wilmotte, Universidad de Liège, Bélgica. Septiembre 2017 a Marzo 2018.

Líneas de investigación

Principal: Cambio global, sociedad y agua

Secundaria: Biodiversidad, servicios ecosistémicos y agua

Experiencia profesional

Docente del Departamento de Ciencias-Laboratorio de Biología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras UNAH TEC Danlí, desde el año 2007 hasta la fecha, impartiendo las asignaturas de Biología General, Educación Ambiental, Ecología y Salud I y II para diversas carreras del Centro Regional, Honduras.

Enlace de Internacionalización UNAH-TEC-DANLÍ desde el 2019 a la fecha.

Coordinadora Regional de Vinculación Universidad-Sociedad UNAH-TEC-DANLÍ desde el 2021 a la fecha.

Coordinadora Regional del Sistema de Admisión de UNAH-TEC Danlí del 2008 al 2011.

Docente de la carrera de Ecoturismo de la Universidad Metropolitana de Honduras (UMH) del 2003 al 2005, impartiendo las asignaturas de Introducción a la Educación Ambiental, Biología General, Ecología, Ecoturismo I y II, Contaminación Ambiental.

Instructora de los laboratorios de biología marina, entomología acuática, manejo de cuencas hidrográficas y limnología para la carrera de Biología de Ciudad Universitaria, Honduras del 2001 al 2005.



Becas y Reconocimientos

Beca Sustantiva de Investigación otorgada por la Dirección de Investigación Científica, Humanística y Tecnológica (DICIHT) de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH) (2022).

Beca para los beneficios complementarios de Gastos Operacionales y Pasantía Doctoral en el Extranjero del Programa de Formación de Capital Humano Avanzado (CONICYT ahora ANID) (2016 y 2017).

Becas para estudiantes de doctorado de la Wallonie-Bruxelles International Bélgica (2016-2017).

Beca para estudios de postgrado en Chile y en el Extranjero del Programa de Formación de Capital Humano Avanzado (CONICYT ahora ANID) (2016-2018).

Beca para estudios de doctorado otorgado por la Red Doctoral en Ciencias, Tecnología y Ambiente (REDOC-CTA UdeC) (2014-2015).

Beca Profesionalizante, Recursos Humanos de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH) (2014-2018).



Beca Básica de Investigación otorgada por la Dirección de Investigación Científica, Humanística y Tecnológica (DICIHT) de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH) (2013-2014).

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE FIGURAS	XIV
INDICE DE TABLAS	XV
RESUMEN	1
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	7
HIPÓTESIS	45
OBJETIVOS	46
Objetivo General	46
Objetivos Específicos	46
CAPÍTULO I Late Holocene paleoenvironmental evolution of two coastal lakes in Mediterranean Chile and its implications for conservation planning	47
CAPÍTULO II Environment and watershed perturbations based on scanning reflectance spectroscopy and sedimentary pigments in two coastal lakes	72
CAPÍTULO III An ancient DNA baseline to trace environmental changes in two coastal lakes of the Mediterranean coast of Chile	95
DISCUSIÓN GENERAL	111
CONCLUSIONES	117
GLOSARIO	120
REFERENCIAS	123

INDICE DE FIGURAS

Figure 1. Study area of the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro.	50
Figure 2. Chronology of the top centimeters of the Laguna Grande (a, b, e) and Laguna Chica (c, d, f) de San Pedro. The dark line represents the age model, while the grey shades represent the estimated errors, and the vertical and grey lines indicate the coring year.	55
Figure 3. Depth profiles of magnetic susceptibility (SI), organic matter (%), biogenic silica (DD), TOC (weight %), C/N ratio atomic, $\delta^{13}\text{C}$ (‰) and $\delta^{15}\text{N}$ (‰) in sediment core of a) Laguna Grande de San Pedro (LGSP) and b) Laguna Chica de San Pedro (LCSP).	56
Figure 4. Fossil pigments stratigraphy of Laguna Grande (a) and Laguna Chica (b) de San Pedro sediment cores.	58
Figure 5. Correlation of ^{210}Pb , ^{137}Cs , magnetic susceptibility, and grain size profiles of the Laguna Grande (a) and Laguna Chica (b) de San Pedro.	52
Figure 6. Location of the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro in central-south of Chile.	76
Figure 7. Stratigraphy diagram of Laguna Chica de San Pedro. Lithogenic content ($R_{570/630}$), degree of diagénesis ($R_{660/670}$) and total chlorin (RABD ₆₆₀₋₆₇₀) with BSi%, stable isotopes (C/N ratio, C^{13} , N^{15}) and TN.	81
Figure 8. Stratigraphy diagram of Laguna Grande de San Pedro. Lithogenic content ($R_{570/630}$), degree of diagénesis ($R_{660/670}$) and total chlorin (RABD ₆₆₀₋₆₇₀) with BSi%, stable isotopes (C/N ratio, C^{13} , N^{15}) and TN.	81
Figure 9. Indicators of trophic conditions and pigment degradation in Laguna Chica de San Pedro. CD, TC, CD/TC ratio, pheopigment-a/chlorophyll-a, Total carotenoids/Total pigments and the percentage of contribution of the algal carotenoids.	82
Figure 10. Indicators of trophic conditions and pigment degradation in Laguna Grande de San Pedro. CD, TC, CD/TC ratio, pheopigment-a/chlorophyll-a, Total carotenoids/ Total pigments, and the percentage of contribution of the algal carotenoids	83
Figure 11. linear regression of RABD ₆₆₀₋₆₇₀ related to total chlorophylls (TC), biogenic silica (BSi) and d^{13}C with statistically significance ($p < 0,05$) for Laguna Grande (a) and Laguna Chica (b).	84
Figure 12. Study area of Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro.	101
Figura 13. The organic matter, magnetic susceptibility, C/N ratio, biogenic silica and fossil pigments profiles were used to select the samples to extract DNA from sediments.	104
Figure 14. The denaturing gradient gel electrophoresis DGGE patterns show the bands obtained with primers for Laguna Chica and Laguna Grande de San Pedro samples.	105

INDICE DE TABLAS

Table 1. Summary of environmental, physico-chemical and biological characteristics of the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro (Parra 1989; Araneda et al. 1999; Cisternas et al. 2000; Barra et al. 2001; Parra et al. 2003; Campos et al. 2005; Almanza et al. 2016).	51
Table 2. Radiocarbon date of bulk sediments from the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro.	54
Table 3. Composition of the sediment grain-size (mean percentage \pm standard deviation) of the Laguna Grande (LGSP) and Laguna Chica de San Pedro (LCSP) described by lithological units RESUMEN	57



RESUMEN

Las reconstrucciones paleolimnológicas de latitudes medias y altas en el hemisferio sur son todavía relativamente escasas, existiendo un vacío de información que requiere mayor atención para entender los eventos climáticos del pasado. Los impactos antropogénicos han evidenciado cambios en el estado trófico y un aumento de floraciones de cianobacterias en el sistema lacustre de San Pedro de la Paz en las últimas décadas. En el presente trabajo se reconstruyó la producción primaria y los cambios sedimentológicos que abarcan los últimos 2500 años en dos lagos costeros en la zona Central de Chile, Laguna Grande (LGSP) y Laguna Chica de San Pedro (LCSP).

Se realizó un enfoque multiproxy en ambos sistemas acuáticos que incluyó los análisis sedimentológicos de sílice biogénica, isótopos estables de carbono y nitrógeno, pigmentos fósiles, análisis de las propiedades espectrales a través de $R_{570/630}$, $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$, además de otros indicadores de producción primaria como radio CD/TC, feopigmentos-a/clorofila-a y total de carotenoides/total de pigmentos en ambos núcleos de sedimentos.

Nuestros resultados mostraron un cambio evidenciado en la sedimentología de los lagos, el cual ocurrió hace aproximadamente 2000 años, probablemente relacionado con los aportes de sedimentos terrígenos derivados de alteraciones hidrológicas y procesos naturales en las cuencas. Se identificó además un período de baja producción primaria entre 850 a 1050 AD para LCSP, evidenciado con una

disminución de TOC, TON, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, Bsi y en pigmentos como Pheophytin-a y valores bajos de Alloxanthin y Canthaxanthin, lo que posiblemente sugiere condiciones de alta precipitación y condiciones cálidas posiblemente relacionado con condiciones similares a El Niño entre 650 y 950 AD (Fletcher & Moreno 2012; Garreaud et al. 2009; Martel-Cea et al. 2016).

Las últimas décadas evidenciaron incrementos en la producción primaria como resultado de perturbaciones antropogénicas, que incluyeron la eliminación de la vegetación nativa, la introducción de especies exóticas y un crecimiento de la urbanización, lo que a su vez resultó en aportes de nutrientes y por lo tanto en procesos de eutrofización.



Perturbaciones alrededor de 1500 AD para LCSP y LGSP mostraron una tendencia hacia el incremento de TOC, TN y un cambio notorio en C/N radio para ambas lagunas, las cuales podrían considerarse como las primeras intervenciones humanas en ambos lagos, asociadas con la llegada de los españoles a la región. Por otro lado, se observaron cambios notables, registrados en un aumento para TOC, TON y C/N radio y un distinguible cambio en CD/TC radio, Pheopigmento-a/chlorophyll -a y el total de los carotenoides/total de pigmentos alrededor de 1900 AD en LGSP estuvieron probablemente asociados con las actividades mineras de Lota. Dichos procesos industriales llegaron a generar la devastación del bosque nativo con procesos erosivos y de arrastre de materia orgánica alóctona que enriqueció el sistema acuático.

En el caso de la comunidad de cianobacterias, se mantuvo presente a lo largo del núcleo de sedimento, mostrando una contribución significativa de los AD 1500 años en adelante, alrededor del año AD 1900 y en los últimos 150 años para LGSP, mientras que la presencia de criptofitas y diatomeas representó la mayor contribución para LCSP a lo largo de los sedimentos.

Adicional a los proxies utilizados, estudios futuros también deberán concentrarse en investigar la aplicación de los indicadores de producción primaria, así como estimar los cambios a través del ADN antiguo y evaluar el potencial de estas técnicas en conjunto, donde la detección de tendencias de estos análisis multiproxy, apoyará la decisión de los gestores ambientales, permitiéndoles responder de manera más efectiva a los cambios ambientales y evitar o mitigar estos cambios de manera proactiva. Concluimos que es urgente un programa de manejo integrado para ambos lagos como un mecanismo de conservación, permitiendo regular las actividades antropogénicas que realizan en los sistemas acuáticos y se contribuya a la adaptación y mitigación ante el cambio climático de la región.



ABSTRACT

Paleolimnological reconstructions of mid and high latitudes in the southern hemisphere are still relatively scarce. There is an information gap that requires more attention to understand the past climatic events. Anthropogenic impacts have shown changes in the trophic state with increased cyanobacterial blooms in the lacustrine system of San Pedro de la Paz in recent decades. In the present thesis, primary production and sedimentological changes covering the last 2500 years were reconstructed in two coastal lakes in Central Chile, Laguna Grande (LGSP) and Laguna Chica de San Pedro (LCSP).

A multiproxy approach was performed in both aquatic systems that included sedimentological analyzes of biogenic silica, stable isotopes of carbon and nitrogen, fossil pigments, analysis of spectral properties through R570/630, R660/670, RABD660-670. Besides other primary production indicators such as radio CD/TC, pheopigments-a/chlorophyll-a and total carotenoids/total pigments in both sediment cores were performed.

Our results showed an evidenced change in the sedimentology of the lakes, which occurred approximately 2000 years ago, related to the contributions of terrigenous sediments derived from hydrological alterations and natural processes in the basins. A period of low primary production was also identified between 850 and 1050 AD for LCSP evidenced by a decrease in TOC, TON, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, Bsi and in the pigments such as Pheophytin-a and low values of Alloxanthin and

Canthaxanthin. It suggests high precipitation and warm conditions possibly related to El Niño-like conditions between 650 and 950 AD (Fletcher & Moreno 2012; Garreaud et al. 2009; Martel-Cea et al. 2016).

The last decades have evidenced increases in primary production as a result of anthropogenic disturbances, which included the elimination of native vegetation, the introduction of exotic species, and growth in urbanization, which in turn resulted in nutrient inputs and, therefore, eutrophication processes.

Disturbances around 1500 AD for LCSP and LGSP showed a trend towards increasing TOC, TN, and a noticeable change in C/N ratio for both lagoons, which could be considered the first human interventions in both lakes, associated with the arrival of the Spanish to the region. On the other hand, notable changes were observed, recorded as an increase for TOC, TON, and C/N ratio and a distinguishable change in CD/TC ratio, Pheopigment/Chlorophyll-a, and total carotenoids/total pigments around 1900 AD in LGSP were probably associated with mining activities at Lota. These industrial processes generated the devastation of the native forest with erosive processes and the dragging of non-native organic matter that enriched the aquatic system.

In the case of the cyanobacterial community, it remained present throughout the sediment core, showing a significant contribution from AD 1500 years onwards, around AD 1900, and in the last 150 years for LGSP. The presence of

cryptophytes and diatoms represented the most significant contribution to LCSP throughout the sediments. In addition to the proxies used, future studies should also focus on researching the application of primary production indicators, as well as estimating changes through ancient DNA and evaluating the potential of these techniques together. The detection of trends of these multiproxy analyzes will support the decision of environmental managers, allowing them to respond more effectively to environmental changes and proactively avoid or mitigate them. We conclude that an integrated management program for both lakes is urgent as a conservation mechanism, allowing regulation of anthropogenic activities carried out in aquatic systems and contributing to the adaptation and mitigation of climate change in the region.



INTRODUCCIÓN

La conexión entre los procesos de eutroficación y la expansión de las cianobacterias en las últimas décadas han sido ampliamente estudiados (Paerl y Paul, 2012; Pal *et al.* 2015). No obstante, el cambio climático ha sido implicado en dichos estudios, documentándose que tanto el calentamiento global como los cambios hidrológicos afectan físico-químicamente los ambientes acuáticos y los procesos biológicos, principalmente los relacionados a la tasa de crecimiento, el metabolismo y la formación de floraciones algales (Paerl y Paul, 2012; Burford *et al.* 2020).

De igual manera, se ha reportado que el aumento de las temperaturas promueve el crecimiento de cianobacterias, ya que la tasa óptima de crecimiento de estos procariontes se genera a altas temperaturas (Paerl y Paul, 2012). Bajo ese contexto, en los últimos años el campo de la Limnología ha abordado con especial interés la temática del cambio climático en relación de cómo afectará las poblaciones de fitoplancton en los ecosistemas acuáticos, dado a que el clima afecta la temperatura, la estructura física, química y los procesos biológicos de un lago (Elliott, 2012; IPCC, 2007; Weber *et al.* 2020).

Por otro lado, es importante destacar que de las diversas especies de fitoplancton que comprenden los lagos del mundo, las cianobacterias son las que causan mayor inquietud y especulación ante el cambio climático, debido a su capacidad

de producir toxinas afectando la salud pública (Elliott, 2012; Paerl y Paul, 2012; Paerl et al. 2020).

Actualmente, Chile ha experimentado importantes cambios demográficos, rápido crecimiento económico y procesos de urbanización, posicionándose hoy día en un papel relevante en términos económicos en el contexto mundial (Gamberini et al. 2019). No obstante, esto significa una mayor presión hacia los recursos naturales y el uso de la tierra debido a la demanda agrícola, forestal, ganadera y la industrialización, lo que amenaza la salud de sistemas únicos y de alta biodiversidad (IPCC, 2014).

Lo anterior se ha visto reflejado en sistemas de gran complejidad y diversidad como los ecosistemas lacustres (Stuardo y Valdovinos, 1989). Tal es el caso de algunos lagos en Chile, los cuales se encuentran potencialmente afectados por estresores climáticos y antropogénicos que generan procesos de eutroficación, principalmente cultural con significativos niveles de intervención humana e intensivo uso industrial (Parra, 1989; Parra *et al.* 2003; Kies et al. 2021).

Parra (2014) y Urrutia (2014) han reportado procesos de eutroficación cultural, como el caso de la Laguna El Peral, donde se han generado mortandad de aves y desarrollo de floraciones algales con cambios en las características organolépticas del cuerpo de agua. Asimismo, en la Laguna Vichuquen se vio afectada la actividad turística conllevando al cierre temporal debido a la proliferación de algas

en el sistema (Urrutia, 2014). Por su parte, el Lago Lanalhue ha mostrado recurrentes episodios de contaminación debido a las descargas de aguas residuales, las cuales han sido responsables del crecimiento microalgal y proliferación de *Egeria densa*. Finalmente, la Laguna Lo Galindo y Lago Rapel han presentado eventos de floraciones de cianobacterias productoras de toxinas principalmente del género *Microcystis sp.* Con un evidente riesgo para la salud de las personas (Parra, 2014; Urrutia, 2014).

De igual manera, el sistema lacustre de San Pedro compuesto por la Laguna Grande y Chica, han sido objeto de varios procesos de cambio en el uso de la tierra durante los últimos 500 años, revelando importantes impactos por actividades agrícolas, quema de la vegetación y desplazamiento de bosque nativo, lo que generó el deterioro de los suelos, áreas degradadas y procesos de erosión, así como en el desarrollo de asentamientos humanos en las cuencas (Araneda et al. 1999; Cisternas et al. 2000; Urrutia et al. 2000; Cruces et al. 2001; Fagel et al. 2010). Por lo que se ha indicado que el impacto del sistema lacustre de San Pedro se inició desde la llegada de los conquistadores españoles, con las alteraciones más destacables producidas en los últimos sesenta años (Urrutia et al. 2000; Cisternas y Torrejón, 2002).

A pesar de tales alteraciones, la laguna Grande de San Pedro, representa un valioso recurso hídrico para la Ciudad de Concepción, considerado el cuerpo de agua de mayor tamaño y por ser un sitio de gran atractivo escénico. No obstante,

desde hace más de 30 años la calidad del agua ha sido el principal punto de atención por parte de las comunidades aledañas y por los pobladores, ya que se han evidenciado señales de eutroficación como la proliferación de cianobacterias principalmente del género *Microcystis aeruginosa* Kützing, presencia de macrófitas como *Egeria densa*, turbiedad, anoxia y presencia de espumas en el cuerpo de agua (Parra et al. 1980, Parra 1989, Almanza et al. 2019). Debido a lo anterior se han implementado acciones y programas de educación sanitaria y ambiental, así como programas de monitoreo y de manejo, los cuales necesitan ser constantes en el tiempo para asegurar este importante recurso para la región (Parra et al. 1980; Parra, 1989; Parra et al. 2016).

De acuerdo a Cruces et al. (2001), estudios de registros sedimentarios en Laguna Grande, mostraron una transformación en relación a la cobertura vegetal de la cuenca, revelándose drásticos cambios en la abundancia de la comunidad fitoplanctónica principalmente diatomeas y una inversión de especies bentónicas a planctónicas. Además, se reportó una disminución en la diversidad de especies concluyendo que el sistema había experimentado una degradación ambiental en términos de trofía en su conjunto, tanto en la cuenca como en el ecosistema lacustre y, por consiguiente, un cambio de un sistema oligotrófico a un sistema eutrófico, como respuesta al desarrollo de las múltiples actividades antropogénicas (Cisternas et al. 2000; Cruces et al. 2001).



En relación a la Laguna Chica de San Pedro, es un sistema que brinda servicios ecosistémicos principalmente relacionados a diversas actividades de recreación, esparcimiento (balnearios, centros deportivos, clubes náuticos, entre otros) y belleza escénica y cuyas aguas son aptas para el baño por lo cual el mantenimiento de la calidad de sus aguas es pertinente para un uso seguro (Rojas et al. 2006; Rojas et al. 2016). De acuerdo, a reconstrucciones de los últimos 150 años en estos sistemas, se reflejaron períodos de cambios, evidenciándose un marcado incremento de las tasas de sedimentación, leve aumento de acumulación de materia orgánica y un período marcado por especies eutróficas (Urrutia *et al.* 2000). De igual manera, este estudio destaca cambios en la comunidad fitoplactónica, en las tasas de sedimentación y una disminución de especies eutróficas, generándose un aumento de las oligotróficas en los últimos años, atribuyéndose a la invasión de la macrófita *Egeria densa*, la cual alteró la disponibilidad de nutrientes en las comunidades plantónicas (Urrutia *et al.* 2000).



Estudios realizados en la región han reportado la presencia de cianobacterias en ambos cuerpos de agua, detectándose floraciones principalmente de *Microcystis aeruginosa* y *Dolichospermum spiroides* en Laguna Grande de San Pedro (Parra et al. 1989; Almanza et al. 2019). En ese sentido, considerando el valor ecosistémico de ambos sistemas, el aprovechamiento de los recursos y los problemas relacionados con la eutroficación, los cuales requieren especial atención para la comunidad científica por su implicancia en la salud de las personas y los ecosistemas (Parra *et al.* 2003; Nazari Sharabian *et al.* 2018).

Recurso hídrico y eutroficación

El agua es un recurso natural que proporciona importantes servicios ecosistémicos. Por consiguiente, el hombre y las diversas actividades dependen exclusivamente de este recurso esencial, permitiendo sustentar la vida humana y de diversos organismos y ecosistemas (Khan y Ansari, 2005). Asimismo, las aguas dulces son ampliamente utilizadas como fuente de agua potable y aprovechadas para diversos propósitos tales como domésticos, industriales, generación de energía, riego agrícola, transporte o navegación, entre otros y su uso dependerá de la calidad del recurso sin que comprometa la salud de las personas e inclusive los ecosistemas terrestres y acuáticos (Khan y Ansari, 2005; Reichwaldt y Ghadouani, 2012; Weber et al. 2020).



Hoy día, mayor cantidad de agua es extraída como resultado del incremento en la demanda por parte de la expansión demográfica acelerada, actividades productivas e industriales. Sumado a lo anterior, las consecuencias del cambio climático, la sobreexplotación y el agotamiento del agua tanto superficial como de la napa subterránea, el incremento en la carga de nutrientes (eutroficación) y los problemas de contaminación (Khan y Ansari, 2005; Brito *et al.* 2012; Bhagowati y ahamad, 2019) alterando el paisaje en el último siglo y presionando seriamente los sistemas acuáticos (Cabecinha *et al.* 2009). En ese sentido, el incremento en los niveles de nutrientes, principalmente el nitrógeno y fósforo han acelerado los procesos de eutroficación en los ecosistemas acuáticos, favoreciendo al crecimiento excesivo de plantas, algas, perifiton y macrófitos (Schindler 2006). La

eutroficación ha ocurrido naturalmente durante siglos a medida que los lagos envejecen y se llenan de sedimentos, esta se presenta con mayor frecuencia (Carpenter,1981).

No obstante, las actividades humanas han acelerado las tasas y el alcance a través de las descargas de fuentes puntuales y no puntuales de los nutrientes limitantes (nitrógeno y fósforo) en los ecosistemas acuáticos, con consecuencias para las fuentes de agua potable, los ecosistemas naturales y para los cuerpos de agua de uso recreativo (WHO, 1999; Zamparas y Zacharias, 2014). En las últimas décadas la proliferación de algas con el enriquecimiento de nutrientes ha resultado debido a las actividades antropogénicas como la agricultura, la industria y la eliminación de aguas residuales (eutroficación cultural) (Zamparas y Zacharias, 2014).



Lo anterior, trae como resultado el desarrollo de floraciones de cianobacterias, así como la generación de espumas en la superficie, plantas flotantes y macrófitas bénticas, decaimiento del oxígeno disuelto debido a la descomposición de la materia orgánica, mortandad de peces y la liberación de elementos tóxicos o fosfatos los cuales se encuentran atrapados en los sedimentos y que aceleran el proceso de eutroficación (WHO, 1999; Weber et al. 2020). Estas floraciones de cianobacterias ocurren en sistemas eutróficos y pueden resultar debido a un amplio rango de consecuencias que abarcan tanto el plano económico, social como ambiental (Lee *et al.* 2015).

Sin embargo, existen algunos factores ambientales que influyen en el desarrollo y la dominancia de las floraciones y la producción de toxinas, que incluyen factores abióticos como la entrada de nutrientes que generan condiciones eutróficas, la hidrodinámica del sistema como corrientes impulsadas por el viento, turbulencia o flujo suave de corriente que permita la reducción en la mezcla vertical de la columna de agua, extensión del período de estratificación o incremento en la estabilidad física, intensidad de la luz solar y la alta temperatura (Dervaux *et al.* 2015; Lee *et al.* 2015; Sukenik *et al.* 2015). Mientras que los factores bióticos, como la competencia por elementos traza, resistencia al pastoreo del zooplancton, habilidad para acumular reservas de nutrientes, la fijación de nitrógeno atmosférico y la asimilación de amonio contribuyen también en la proliferación de éste grupo (Dervaux *et al.* 2015; Lee *et al.* 2015; Pal *et al.* 2015; Sukenik *et al.* 2015; Paerl *et al.* 2020).



Generalidades de las Cianobacterias

Las cianobacterias son un grupo de microalgas que constituyen parte de la producción primaria autóctona de los sistemas acuáticos, representando un substancial componente biológico para los programas de monitoreo, debido a que su metabolismo es sensible a perturbaciones, tanto naturales como antrópicas (Domínguez *et al.* 2008; Bellinger y Sigee, 2010; Wu *et al.* 2012; Saad y Atia, 2014; Chen *et al.* 2015). Por lo tanto, pueden causar impactos en la calidad de las aguas, como turbidez, disminución del oxígeno disuelto y la productividad del ecosistema (Domínguez *et al.* 2008; Bellinger y Sigee, 2010; Wu *et al.* 2012; Saad

y Atia, 2014; Chen *et al.* 2015) y por tal razón su presencia o ausencia ha sido utilizada como indicadora del estado ecológico de los niveles de nutrientes, porque muestran atributos espaciales y temporales frente a cambios ambientales (Bellinger y Sigge, 2010; Burford et al. 2020).

Se encuentran clasificadas dentro de la división Cyanophyta y son responsables en gran parte de la vida actual y de la atmósfera enriquecida de oxígeno, de la posterior evolución de vegetales superiores y animales, también se les ha denominado "algas verde-azules", debido a la presencia del pigmento azul "ficocianina", que junto con la clorofila "a" y otros pigmentos son utilizados para capturar la luz durante el proceso fotosintético (Parra y Bicudo, 1995; Wetzel, 2001), siendo considerados como los organismos más antiguos de la tierra y uno de los mayores grupos de procariotes fotosintéticos que proliferaron durante el período precámbrico, los cuales datan aproximadamente desde hace unos 3,5 billones de años (Parra y Bicudo, 1995; Wetzel, 2001; Paerl y Paul, 2012; Saad y Atia, 2014).



Su larga historia evolutiva les ha permitido el desarrollo de adaptaciones ecofisiológicas altamente eficaces y estrategias que le permiten la supervivencia y la dominancia en ambientes acuáticos sobre todo en lagos sometidos a cambios ambientales naturales como los provocados por los humanos. Asimismo, las cianobacterias son un grupo altamente diverso con la capacidad de flotabilidad debido a la presencia de vesículas de gas, presentando además mecanismos a

nivel celular que les permiten formar grandes colonias o filamentos generando de esta manera poblaciones densas conocidas como “floraciones” (Elliott, 2012; Dolman *et al.* 2012; Paerl y Paul, 2012; Saad y Atia, 2014; Sukenik *et al.* 2015). No obstante, estos rasgos específicos como la regulación de la flotabilidad y la formación de colonias, les ha permitido a las cianobacterias ocupar una posición dominante en los ensamblajes de lagos eutróficos, como una ventaja competitiva del resto del fitoplancton (Dolman *et al.* 2012).

Pearl y Paul (2012) y Cottingham *et al.* 2021) destacan que el sobre-enriquecimiento de nutrientes por actividades humanas (principalmente por nitrógeno y fósforo), asociado con el desarrollo agrícola, industrial y urbano ha promovido tasas de eutrofización (producción primaria), con una notable dominancia de floraciones de cianobacterias dañinas en ambientes planctónicos. Estas razones, hace que las cianobacterias estén presentes en una amplia distribución geográfica, que van desde regiones polares a tropicales, tanto en el hemisferio norte, como en el sur, con capacidad de dominar la producción primaria y mostrando desde luego variaciones de acuerdo a la carga de nutrientes, factores bióticos y al cambio climático global (Elliott, 2012; Dolman *et al.* 2012; Paerl y Paul, 2012; Saad y Atia, 2014; Sukenik *et al.* 2015; Nazari-Sharabian *et al.* 2018).

Otro rasgo importante es la capacidad que tienen algunas cianobacterias para fijar el nitrógeno atmosférico, especialmente cuando la relación nitrógeno/fósforo es baja y la disponibilidad del nitrógeno es limitado a las tasas de crecimiento del

fitoplancton (Dolman et al. 2012), como algunos géneros de cianobacterias (ej. *Dolichospermum* sp.) que presentan estructuras de fijación de nitrógeno (heterocistos) y en donde la disponibilidad de fósforo no es el factor limitante. Por tal razón, la tendencia de lagos eutróficos de tener una baja relación nitrógeno/fósforo, ha sido sugerida como la tendencia de las cianobacterias de dominar el fitoplancton en esos sistemas, afirmándose que llegan a ser dominantes bajo estas condiciones, reduciendo las entradas de nitrógeno como un medio para controlar el fitoplancton (Dolman *et al.* 2012; Sukenik *et al.* 2015; Paerl et al. 2020).

Condiciones generadas por el calentamiento climático en ambientes acuáticos pueden promover el crecimiento de cianobacterias, aún en condiciones de enriquecimiento de nutrientes, debido a que las tasas de crecimiento son optimizadas a temperaturas relativamente altas (superiores a 25°C), ya que estos organismos por ser procariontes tienden a tomar ventaja por encima de otros grupos de productores primarios, como las clorofitas, diatomeas y dinoflagelados (Pearl y Paul, 2012). Por otro lado, el incremento en las temperaturas ambientales asociado al calentamiento climático genera una prolongación del período de estratificación en sistemas lacustres, pudiendo favorecer a muchas especies de cianobacterias a formar floraciones algales en la superficie, principalmente aquellas que se ven favorecidas por su flotabilidad (vesículas de gas). De esta manera, la biomasa de cianobacterias se incrementará conforme aumente el calentamiento global a futuro, sumado con la carga de nutrientes y a procesos de



estratificación, con serias consecuencias para el suministro de agua para consumo humano, irrigación, pesca y recreación (Elliott, 2012; Pearl y Paul, 2012; Burford et al. 2020).

En relación a los efectos ocasionados por floraciones de cianobacterias se ha documentado que incrementan la demanda de oxígeno, propiciando condiciones anóxicas e hipóxicas que conducen la muerte de peces. Asimismo, bloquean la entrada de luz que llega a los productores bentónicos debido a la formación de grandes mucílago, afectando la trama trófica del fondo de los lagos (Paerl y Paul, 2012; Lee *et al.* 2015). Sumado a lo anterior la liberación de compuestos tóxicos que afectan la calidad de las aguas, además de otros problemas de color, olor y sabor afectando las aguas de irrigación, recursos recreacionales, pesca y aguas para consumo humano, que muy probablemente requerirá de un proceso de tratamiento, reduciendo de esta manera el valor de sus propiedades locales y la pérdida de los servicios ecosistémicos (Paerl y Paul, 2012; Chen *et al.* 2014; Deshpande *et al.* 2014; Lee *et al.* 2015).



En referencia a la generación de toxinas, existen varios géneros de cianobacterias planctónicas y bénticas que producen péptidos tóxicos y alcaloides, cuyo rol biológico aún no es claro (Sukenik *et al.* 2015). No obstante, no todas las especies de cianobacterias producen toxinas, por lo que se requiere identificar y cuantificar la abundancia de cianobacterias productoras de toxinas y las que no producen (Lee *et al.* 2015; Moustafa-Gouni et al. 2020). Su ocurrencia depende de la

composición de las comunidades, además diferentes especies pueden producir diferentes toxinas, por ejemplo, las microcistinas son producidas por *Microcystis*, *Dolichospermum* y *Planktothrix*; la cilindrospermopsina por *Cylindrospermopsis* y *Aphanizomenon* y las anatoxinas y toxinas paralizantes de mariscos por diversas especies como *Dolichospermum* y *Aphanizomenon* y la existencia de algunos taxones como *Limnothrix*, para lo cual ninguna sustancia tóxica ha sido identificada (Dolman *et al.* 2015). Incluso se sabe que cepas toxigénicas y no toxigénicas que coexisten en las poblaciones de la misma especie y que la proporción en una población puede ser bastante variable. Además, la concentración del total de toxina en la columna de agua dependerá del contenido celular de la taxon que la produce, lo cual podría verse afectado por parámetros ambientales como la luz, temperatura y nutrientes (Dolman *et al.* 2015; Lee *et al.* 2015).



Dentro de los principales efectos de las microcistinas hepatotóxicas se encuentran daños en el aparato digestivo y el hígado y en los humanos puede causar síntomas parecidos a la neumonía. Las neurotoxinas por su parte afectan el sistema nervioso, mientras que las citotoxinas causan efectos necróticos en múltiples órganos como: hígado, riñones, pulmones, bazo e intestino, mientras que los genotóxicos generan la pérdida de cromosomas y la ruptura de las cadenas de ADN (Elliott, 2012). Las floraciones de cianobacterias, por lo tanto, representan una preocupación desde el punto de vista ecológico, como en términos de salud humana, en especial cuando se desarrollan cepas que contienen toxinas las

cuales son liberadas al sistema, convirtiéndose en una preocupación para la salud humana actualmente (WHO, 1999; Pal *et al.*, 2015; Kardinaal et al. 2007).

Por otro lado, se ha observado en las últimas décadas, un incremento de floraciones de cianobacterias, inclusive en lagos templados del planeta, así como una mayor frecuencia e intensidad de estos fenómenos, lo cual representa un problema para las aguas y el manejo de los ecosistemas. Debido a ello, estas floraciones pueden ser potencialmente tóxicas y causar efectos en la vida silvestre y de los humanos (Pal *et al.* 2015).

Estos fenómenos de floraciones algales, se han visto asociados al cambio global, que no solo comprenden el aumento de la población humana, la intensidad en los procesos agrícolas y la industrialización, sino que además el cambio climático, los que promueven procesos de eutroficación en aguas continentales (Paerl y Paul, 2012; Pal *et al.* 2015). Éste último, a través del calentamiento climático global, ha generado un incremento de las temperaturas ambientales y en los cuerpos de agua, con una fuerte estratificación y un aumento de las entradas de agua dulce y nutrientes a las costas, producto de la alteración del clima, y por consiguiente, efectos directos e indirectos en la calidad de las aguas continentales y marinas (Suikkanen *et al.* 2013; Burford et al. 2020).



Cambio climático y Cianobacterias

De acuerdo al IPCC (2007), el incremento en la frecuencia e intensidad de los cambios asociados al cambio climático (calentamiento climático global), han sido observados mediante el marcado incremento de las temperaturas medias mundiales desde la segunda mitad del siglo XX a la fecha. Este cambio trascendental, ésta asociado al aumento en las concentraciones de gases de efecto de invernadero, específicamente el bióxido de carbono (CO_2), por ser el mayor indicador para relacionar el incremento de las temperaturas globales y de medición de la quema de combustible fósil, la quema de biomasa y en menor proporción, pero significativo el cambio en el uso del suelo (IPCC, 2007; Verspagen *et al.* 2015).



Sin embargo, concentraciones de CO_2 presentes en la atmósfera pueden ser fijadas por las especies formadoras de floraciones de cianobacterias, debido a una alta demanda para sus funciones fotosintéticas, situación que se favorece por las condiciones de cambio climático, sumadas a enriquecimientos con cargas de nutrientes, lo cual conlleva a un incremento de las concentraciones alcalinas de pH cercano a 10 o superior, bajo condiciones de afloramiento (Paerl y Paul, 2012; Verspagen *et al.* 2015). Al ocurrir esta situación, las cianobacterias que se encuentran flotando en la superficie mostrarán mayor ventaja por sobre otras poblaciones de algas, las cuales interceptan el CO_2 atmosférico, disminuyendo el carbono inorgánico disuelto (DIC) y limitando de esta forma el crecimiento fotosintético del resto de fitoplancton (Paerl y Paul, 2012).

Por otro lado, Pearl y Paul (2012), Pal *et al.* (2015) y Cottingham *et al.* (2021) han sugerido que el aumento de la temperatura, producto del calentamiento global y el aumento de la contaminación de los ecosistemas acuáticos, debido a las actividades antropogénicas, han sido elementos claves, que en las últimas décadas han favorecido a la expansión, selección y la proliferación de cianobacterias, por lo que estos factores son forzantes que pueden causar la expansión de este grupo, especialmente en países donde el control sobre los nutrientes son escasos. Por consiguiente, el calentamiento de la superficie del agua genera estratificación vertical y tiende a alargar más este período, favoreciendo los procesos de eutroficación y el desarrollo de floraciones algales de cianobacterias (Paerl y Paul, 2012; Bhagowati y Ahamad, 2019). Esta condición genera que se presente un incremento mayor en la temperatura del agua de manera local, mediante la absorción de la luz, a través de los pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores (Zhang *et al.* 2019). Ello promueve su dominancia competitiva por sobre otros grupos de fitoplancton; además que presentan compuestos especializados que les permiten absorber rayos UV y sobrevivir en condiciones extremas de alta radiación solar (Paerl y Paul, 2012; Sukenik *et al.* 2015).

Recientemente, se ha discutido sobre la expansión de las cianobacterias a nuevos hábitats, como por ejemplo floraciones de Nostocales (*Aphanizomenon* y *Cylindrospermopsis*) a zonas templadas, vinculada al cambio climático, lo cual podría tener un efecto en los componentes del sistema que puedan afectar la

calidad del sistema acuático y los servicios que éste proporciona a la sociedad (Sun *et al.* 2012; Sukenik *et al.* 2015). Por otro lado, se ha identificado la expansión geográfica de las Chroococcales tóxicas del genero *Microcystis*, la cual se encuentra asociada a eventos de calentamiento global y a la eutroficación a nivel regional (Sukenik *et al.* 2015; Zastepa *et al.* 2017; Sukenik y Kaplan, 2021).

Registros de sedimentos de lagos templados en los últimos 15 a 20 años han revelado que las floraciones se han incrementado incluso hasta un 68% en condiciones de verano con elevadas pérdidas económicas (Pal *et al.* 2015; Sukenik *et al.* 2015; Ho *et al.* 2019). Sin embargo, se consideran que son escasos los registros a largo plazo de ensamblajes de algas o registros sedimentarios existentes, de acuerdo al número de lagos, lo que representa una dificultad al momento de evaluar la frecuencia y la prevalencia de estas floraciones y si éstas han incrementado en los últimos años, o si su tendencia ha mejorado como resultado de los monitoreos mejor efectuados (Pal *et al.* 2015). Asimismo, se ha indicado que las altas concentraciones de nutrientes y la temperatura del agua presentan una correlación positiva respecto a la biomasa de cianobacterias de los ecosistemas lacustres (Paerl y Paul, 2012; Pal *et al.* 2015; Henao *et al.* 2020).

Variabilidad Climática durante el último milenio

La comprensión, predicción y descripción de manera precisa sobre el comportamiento del sistema climático de la tierra, sigue siendo un desafío que requiere de registros climáticos extensos y confiables (Villalba, 1990; Harris *et al.*

2008; Mann et al. 2008; Flantua et al. 2016), los cuales permiten comprobar modelos del clima y estudiar patrones espacio temporales a escalas de tiempo más largas (Zeng et al. 2008; Baker et al. 2009). Debido a la limitada información en América del Sur, resulta un gran obstáculo evaluar la variabilidad climática y conocer el impacto humano durante los últimos 2000 años (Flantua et al. 2016; Burns et al. 2019). Hoy día, la historia climática en los últimos mil años es considerada relevante para el estudio de la variabilidad natural del clima actual (Busalacchi, 2004), considerando que el hemisferio sur juega un rol transcendental en las fluctuaciones climáticas a nivel global y por lo tanto la relevancia de contar con registros instrumentales (Neukom, 2011).

Estudios que valoran diversos proxies para reconstrucciones climáticas constituyen una excelente información, para desarrollar y probar modelos, además que los mismos son útiles por la capacidad de simular características a largo plazo del cambio climático (Last y Smol, 2001). Registros estratigráficos de los sedimentos de los lagos, son considerados archivadores ambientales del pasado de estos sistemas (Bradley, 1999; Last y Smol, 2001). La comunidad científica ha reconocido la existencia de eventos climáticos que abarca uno o dos milenios, conocido como Holoceno tardío, cuyas variaciones en el clima son posiblemente representativas de la variabilidad natural que podría esperarse en el siglo actual en ausencia del impacto humano (Jones and Mann, 2004).

Estos eventos constituyen, la Anomalía Cálida Medieval (950-1250 AD), concepto que, en el año de 1965, fue propuesto por primera vez por Lamb y fue reconocida en sus inicios como época cálida medieval temprana, fundamentándose en la evidencia de Europa occidental y que posteriormente cambió por período cálido medieval y hoy día es aceptada por los científicos como Anomalía Cálida Medieval (MCA, por sus siglas en inglés), abarcando aproximadamente desde el año 1000 a 1200 AD (Bradley, 2003; Mann et al., 2009; Luning et al. 2018).

Durante mucho tiempo no estaba claro si la MCA se desarrolló en América del Sur, tal como estaba detallado el calentamiento de la MCA en el hemisferio norte (Mann, 2002). Sin embargo, hoy día el número de evidencias ha permitido reconocer condiciones cálidas para este período, a excepción de las surgencias durante todo el año en zonas de Perú, Norte de Chile y Cabo Frío en Brasil, donde se manifestó debido a los cambios en los vientos y las corrientes oceánicas (Salvatteci et al. 2016; Castillo et al. 2017).

Este evento ha sido reconocido como un período de cambio climático preindustrial natural asociado con una temperatura marcada y variabilidad hidroclimática en muchas partes del mundo, además de ser característico de una fase cálida (Mann et al., 2008; Lünning et al., 2018). Se ha identificado como un período caracterizado por temperaturas ambientales similares a las actuales, con intensas sequías en algunas regiones del hemisferio norte, e inclusive siendo más cálida que las del siglo XX en el hemisferio sur (verano austral) (Bradley, 2003; Rojas et

al. 2016). Asimismo, diversos autores mencionan que la reconstrucción de la temperatura durante verano para el período comprendido entre 900-1350 AD en América del Sur, mostraron valores significativamente superiores que excedieron a los modernos, sugiriéndose que la segunda mitad del MCA fue considerablemente frío y la parte posterior de la LIA considerablemente cálido (Bradley, 2003; Neukom, 2011; Luning et al. 2016; Luning et al. 2018).

Luning et al. (2018), ha sugerido que el calentamiento de la MCA en América del Sur y en el hemisferio norte, parece haber ocurrido en gran parte de manera sincrónica y posiblemente alcanzando intensidades comparables. No obstante, registros indicaron que varios sitios estudiados mostraron algunas discrepancias, las cuales son atribuibles a variaciones regionales a través del continente o a un entendimiento incompleto de los indicadores utilizados. Por lo tanto, se requieren de mayores estudios en relación a cambios de temperatura y precipitación en núcleos de hielo, palinología, anillos de árboles, espeleotemas y sedimentos lacustres (Luning et al. 2018; Flantua et al. 2019).

Estudios a escala regional muestran diferentes manifestaciones hidroclimática en los últimos mil años en base a sus condiciones latitudinales y altitudinales. De acuerdo a Fletcher y Moreno (2012) la Laguna San Pedro en el centro-sur de Chile (38°S), cuya reconstrucción paleoambiental sugiere una relativa baja humedad de verano con tendencias cálidas entre los años 950 y 1200 AD coincidente con la MCA. Estos resultados mostraron condiciones de un estado climático parecido a

El Niño, comportándose además como un conductor dominante hidroclimático en la región transicional del Mediterráneo templado del Chile central en los últimos 1500 años.

De igual manera, Von Gunten et al. (2009) reconoce el periodo MCA como un periodo cálido entre 1150 y 1350 para la Laguna Aculeo (34°), mientras que Martel-Cea et al. (2016) sugiere un periodo de temperaturas más frías de verano alrededor de los años 850 al 1000 AD en la Laguna Chepical, lo que reflejo una variabilidad más húmeda que las condiciones actuales alrededor del año 1000 AD. Aunque no fue coincidente con los veranos cálidos registrados en tierras bajas, si prevalecieron condiciones relativamente húmedas consistentes con las condiciones promedios parecidas a El Niño.

Ciertas diferencias entre una región a otra, pueden demostrar que existen discrepancias que pueden llegar a contradecir los paradigmas del ENSO durante los últimos 1500 años inferidos predominantemente de las temperaturas superficiales marinas y modelación de datos, donde pudiesen encontrar que la LIA (MCA) muestren condiciones parecidas al Niño (Niña) (Fletcher y Moreno, 2012). Por otro lado, Fletcher y Moreno (2012) describe que hacia el sur de Sur América existe una influencia de dominio climático subtropical y extra-tropical que denota dos componentes importantes globales del sistema climático: el sistema de alta presión del sur del océano pacífico y los vientos del oeste extratropicales

(westerlies), siendo éste último con reconocida influencia en el clima mediterráneo de Chile central a través de los eventos El Niño /La Niña (Jenny et al. 2002).

Otro evento climático relevante durante el último milenio y que constituye un período frío a escala planetaria, es la Pequeña Edad de Hielo (LIA, por sus siglas en inglés) que comprende desde el año 1570 hasta 1900 AD en el Hemisferio Norte (Matthews & Briffa, 2005). De acuerdo, a PAGES 2K Consortium (2013), también se ha manifestado en otras regiones del mundo, incluido en Suramérica, aunque con distinta extensión temporal. Por su parte, Neukom et al. (2014) destaca un período frío entre 1571 y 1722 AD, como el único detectado para ambos hemisferios simultáneamente, durante el último milenio y que coincidió con el Mínimo de Maunder, un período de baja actividad solar.



De la misma forma, Masiokas et al. (2009), determinó que registros de precipitaciones por encima del promedio en los Andes subtropicales como en las regiones del Altiplano durante el siglo XVII, cuando las temperaturas de la LIA son mínimas. Por otro lado, registros de polen de núcleo de hielo del Sajama Ice Cap, mostraron un período húmedo anómalo en el Altiplano durante el siglo XVII (Liu et al. 2005), resultado que fue apoyado por Morales et al. (2004), utilizando anillos de árboles de *Polylepis tarapacana* como proxy de lluvia.

Asimismo, diversos autores detectaron un período húmedo en los Andes subtropicales durante la segunda parte del siglo XVII, basado en el ancho de los

anillos de los árboles de *Austrocedrus chilensis*. Por su parte, Rojas et al. (2015) describe que la LIA (1450-1850 AD), se caracterizó por un Atlántico norte ecuatorial frío y un cálido Atlántico ecuatorial sur, patrón opuesto durante la MCA. Asimismo, otros autores la reconocen como un período de enfriamiento, altamente fluctuante (García y Martínez, 2009; IPCC, 2014; Nieto et al. 2014).

El Antropoceno, según Zalaciewicz et al. (2011), ha sido ampliamente debatido por diversos autores en relación a la escala y magnitud. No obstante, ha sido definida como una nueva época geológica caracterizada por la acción de los seres humanos, la cual está determinada principalmente por cambios globales en el planeta debido a sus intervenciones (Lewis y Maslin, 2015). Esta nueva época se argumenta a través del advenimiento de la época industrial (1850 AD) enfocada a cambios profundos en la relación sociedad naturaleza (Steffen et al. 2011). De acuerdo a García y Martínez (2009) y Nieto et al. (2014), los registros existentes para Sur América, en general se encuentran escasamente documentados, por lo que para varios autores representan una tierra incógnita por los vacíos de datos existentes actualmente (Von Gunten et al. 2009).

Bajo ese contexto resulta útil evaluar cómo se registran los cambios en la dinámica de las poblaciones de cianobacterias y de otros grupos algológicos como evidencia de la respuesta de los ecosistemas a los cambios generados en su cuenca por acción humana y a los efectos del actual cambio climático (Battarbee, 2000), utilizando distintos métodos para evaluarlos, dentro de los cuales pueden

aplicar las técnicas de análisis de ADN y pigmentos sedimentarios que permitan responder e interpretar la composición algológica de distintos grupos de microalgas, incluyendo a las cianobacterias y su relevancia por sus impactos en la salud humana, como en los ecosistemas acuáticos.

Registros sedimentarios

Un lago recibe aportes, tanto líquidos como sólidos de su cuenca, así como aportes de la atmósfera, por lo que el estudio de la calidad del agua y de las comunidades biológicas de estos ecosistemas permiten evaluar los efectos acumulativos en el tiempo (Schindler, 2009; Bellinger y Sigee, 2010). Este proceso de acumulación gradual de nutrientes ya sea natural o antropogénico, genera una depositación paulatina de los sedimentos provenientes de la cuenca de drenaje (Apolinarska et al. 2020).



La sedimentación continua del fitoplancton de un lago conduce a la acumulación de sedimentos que corresponden tanto a algas planctónicas como bentónicas, permitiendo posteriormente la descomposición de las mismas (Bellinger y Sigee, 2010). En ese sentido, los sedimentos de los lagos son importantes como receptores de materia orgánica alóctona cuando provienen de plantas terrestres, macrófitas, entradas riverinas y fuentes de origen antropogénico, así como de las fuentes autóctonas, como resultado de la presencia del fitoplancton y microfitorbentos (Parra *et al.* 2004; Bellinger y Sigee, 2010). Por tal razón, la fuente y la composición de la materia orgánica sedimentaria en un ecosistema lacustre es

importante por la relación con los problemas de eutroficación, ya que la degradación de la materia orgánica sedimentaria se acompaña de la liberación de nutrientes, lo cual constituye una importante contribución del estado eutrófico del ecosistema lacustre (Xu *et al.* 2015).

Los sedimentos lacustres, ofrecen la oportunidad de estudiar el funcionamiento interno de los ecosistemas acuáticos a grandes escalas de tiempo (Domaizon *et al.* 2013), generando un registro temporal con resultados confiables, dado a que requiere condiciones anaeróbicas para la preservación óptima del fitoplancton, y que las muestras sean tomadas en la parte central más profunda del ecosistema lacustre (Bellinger y Sigee, 2010). Lo anterior, permite estudiar patrones y cambios ocurridos en los ecosistemas lacustres, donde la integración de diversos componentes relacionados a las características ecológicas y químicas del sistema, del paisaje, morfología, clima e hidrología permiten identificar eventos naturales y antropogénicos ocurridos en el pasado (Sun *et al.* 2012; Martínez de la Escalera *et al.* 2014; Slemmons *et al.* 2015).



Bajo ese contexto, las políticas y la legislación a nivel mundial han requerido evaluar el estado actual del agua en relación a alguna línea base del pasado para un cuerpo de agua. En particular, la ausencia de los datos contemporáneos a largo plazo significa que las condiciones de referencia tienen que ser evaluadas de manera retrospectiva, lo que incluye el uso de la paleolimnología, que comprende el estudio de las condiciones limnológicas pasadas, sus cambios y sus posibles

causas (Bellinger y Sigee, 2010). En ese sentido, la necesidad de reconocer a la paleolimnología como una herramienta valiosa para análisis y evaluaciones ambientales retrospectivas en Chile y otras áreas geográficas, que permita generar y construir fundamentos legales para la protección y el manejo eficiente del recurso hídrico (Alvarez et al. 2020).

Enfoques paleolimnológicos

Análisis de ADN en los sedimentos

De acuerdo a Martínez de la Escalera *et al.* (2014), el apareamiento de floraciones de cianobacterias generadas por el impacto humano es un tema bien conocido en los ecosistemas acuáticos, donde estos impactos afectan en general la composición de las comunidades algológicas y de otros organismos. Sin embargo, pocos estudios han abordado este tema en particular, sobre todo considerando la importancia que tienen estas especies en relación al potencial de producir toxinas, además de que su expansión y el aumento de la frecuencia de las floraciones que han aumentado en los últimos años generado una preocupación generalizada (Sukenik *et al.* 2015).



Bajo ese contexto, hoy en día el uso de enfoques paleolimnológicos, han sido usados para reportar cambios en dichas comunidades como resultado de las actividades antropogénicas en los sistemas acuáticos (Pal *et al.* 2005). Así como para determinar tendencias temporales del fitoplancton como es el caso de las cianobacterias, incorporando análisis como el ADN antiguo como una potente

herramienta que ha servido para confirmar restos microfósiles y para proveer una importante información de la estructura de esta comunidad de microalgas, además de los cambios en la composición de especies en respuesta a la variación ambiental (Fernández Carazo *et al.* 2013). Otro aporte del ADN antiguo ha sido la obtención de información sobre la abundancia específica de genes, la función del pasado de un ecosistema acuático y la reconstrucción paleocianobacterial de la dinámica de las comunidades de los lagos (Martínez de la Escalera *et al.* 2014; Pal *et al.* 2015).

Es así que, en la última década el ADN ha sido exitosamente extraído de núcleos de sedimentos, tanto marinos como de lagos, y se ha demostrado cuantificaciones de ADN antiguo que datan por lo menos de hace 17.000 años (Pal *et al.* 2015). Otros estudios por su parte mencionan que el ADN de las cianobacterias ha sido detectado en evaporitas de hace 5,9 millones de años en el Mar Mediterráneo, así como la detección de cambios en la estructura de la comunidad de fitoplancton, en núcleos de sedimentos de lagos en Antártica desde hace 10,450 años (Fernández Carazo *et al.* 2013); siendo pocos núcleos los que han sido datados en algunos países como China, Nueva Zelanda, Francia y lagos subtropicales (Pal *et al.* 2015).

De acuerdo a Boere *et al.* (2011) el análisis del ADN antiguo derivado del plancton preservado en sedimentos lacustres ha proporcionado una información valiosa para la reconstrucción del holoceno, incluso en condiciones ambientales del

pleistoceno tardío. Asimismo, el impacto del clima inducido por cambios ambientales e hidrológicos en la dinámica pasada de sucesión del fitoplancton (Fernández Carazo *et al.* 2013). Es importante considerar, algunos factores que influyen en el éxito de la preservación del ADN dentro de los registros sedimentarios, los cuales comprenden la actividad microbiana, la adsorción del ADN por las matrices orgánicas y minerales, el daño oxidativo, algunas condiciones físicas como temperatura, salinidad y presión del sistema acuático (Boere *et al.* 2011).

Por otro lado, diversos autores mencionan sobre algunas especies de cianobacterias, que particularmente no dejan restos fósiles reconocibles o características celulares, lo cual dificulta la evaluación de su respuesta a la variabilidad del clima pasado (Boere *et al.* 2011). Por otro lado, el ADN del plancton fósil permite preservarse por largos períodos de tiempo y en ese sentido es usado como un biomarcador para inferir la presencia y la ecología de las cianobacterias (Boere *et al.* 2011; Fernández-Carazo y Wilmotte, 2011; Martínez de la Escalera *et al.* 2014), y más exhaustivamente para reconstruir los cambios pasados en la biodiversidad y la composición de ensamblajes de fitoplancton con alta resolución taxonómica (Domaizon *et al.* 2013), llegando a convertirse en una importante herramienta paleoecológica en la actualidad (Fernández Carazo *et al.* 2013).

La invención de la Reacción de la Cadena de Polimerasa (PCR), ha permitido una diversidad de estudios de ADN antiguo tal es así que el gen de ARNr 16S y 23S, en la actualidad es el método más prometedor para la clasificación filogenética de las cianobacterias (Boutte *et al.* 2006). Sin embargo, sobre esta base se han desarrollado la combinación de varios procedimientos, como el Gradiente de Desnaturación Gel de Electroforesis (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis - DGGE), que es una técnica basada en el PCR. Dicha técnica ha sido ampliamente usada en los estudios de comunidades de cianobacterias, que consiste en la separación de las moléculas del ADN, la cual ha demostrado ser útil para visualizar la diversidad de genes de cianobacterias 16S ARNr en las muestras ambientales (Nübel *et al.* 1997; Boutte *et al.* 2006).



Otros avances, han permitido que, dentro del cromosoma bacteriano, el locus ribosomal ha sido investigado con propósitos taxonómicos o filogenéticos, donde la región localizada entre los genes ARNr 16S y 23S, conocida como Espaciador Transcrito Interno (Internal Transcribed Spacer ITS), provee una excelente herramienta para una identificación más afinada de las especies, mientras que los genes ribosomales pueden perder resolución de los niveles taxonómicos menores (Mora *et al.* 2003). Por otro lado, el uso de partidores o primers específicos para cianobacterias 16S ARNr que permiten abarcar cianobacterias tanto filamentosas como unicelulares, lo que ha permitido evaluar la diversidad de la comunidad de cianobacterias (Boutte *et al.* 2006).

Pigmentos sedimentarios

Los pigmentos son moléculas orgánicas importantes que se encuentran representados en la comunidad fototrófica, producidos por algas y otros organismos fotosintetizadores y son específicos para cada grupo en particular (Reuss, 2005; Picard et al. 2022). Su función principal es la recolección o captura de energía solar para el proceso fotosintético, además de la fotoprotección cuando se encuentran expuestos al exceso de luz solar (Deshpande et al. 2014; Rodríguez-López et al. 2022). Desde el punto de vista químico se encuentran ligados en un sistema complejo de pigmentos-proteínas, constituidos por centros de reacción complejos para capturar la energía solar (Reuss, 2005; Deshpande et al. 2014). En comparación con otros materiales orgánicos, los pigmentos son compuestos lábiles y presentan ~~variada estabilidad~~ individual. Sin embargo, se ha determinado que los pigmentos, principalmente las clorofilas son lábiles seguidos por lípidos, aminoácidos y finalmente los carbohidratos como el grupo más refractario (Reuss, 2005; Sanchini et al. 2020).



Los pigmentos han sido utilizados por varias décadas con el objeto de identificar cambios en la comunidad de organismos fitoplanctónicos, ya que a largo plazo estas moléculas polares tienden a fosilizarse, quedando preservadas en los sedimentos por miles de años, generando un importante registro de la abundancia del fitoplancton (Reuss, 2005; Reuss et al. 2010). Asimismo, son utilizados como indicadores de eutroficación e impacto antropogénico, como valiosos bioindicadores para identificar eventos ecológicos sobre escalas de tiempo

histórico, además de importantes biomarcadores debido a su especificidad taxonómica, representando la comunidad fototrófica entera y la producción primaria global (Reuss, 2005; Deshpande *et al.* 2014; Arnold *et al.* 2019).

Estudios paleolimnológicos en regiones con enriquecimiento de nutrientes y señales de eutroficación, que incluyen pigmentos sedimentarios, han mostrado una tendencia clara hacia el calentamiento global, traduciéndose en cambios de composición de especies fitoplanctónicas con un aumento en el predominio y la persistencia de las cianobacterias (Paerl y Paul, 2012; Richardson *et al.* 2019). Ciertos ecosistemas lacustres son utilizados como sistemas modelos para el análisis de pigmentos principalmente cuando estos son someros, ya que los pigmentos viajan a una menor distancia hacia los sedimentos, encontrando menos obstáculos para la preservación (Deshpande *et al.* 2014; Zhang *et al.* 2019). Otros autores mencionan que estos sistemas son propensos a la resuspensión lo cual podría generar confusiones en la interpretación paleolimnológica y que las zonas bénticas anóxicas permiten a los pigmentos estar protegidos por la oxidación antes de alcanzar los sedimentos (Reuss, 2005; Deshpande *et al.* 2014; Erratt *et al.* 2022).

En ese sentido, los pigmentos son degradados en los ecosistemas acuáticos por procesos químicos, fotoquímicos y biológicos. En el caso de la clorofila, es más propensa a la senescencia y la descomposición biológica, mientras que los carotenoides son encontrados en su mayoría más estables que las clorofilas, pero en general todos estos productos se descomponen y en su mayoría son

detectables a través del análisis de pigmentos (Reuss, 2005; Deshpande *et al.* 2014; Soares *et al.* 2022). Sin embargo, solo una fracción de la producción fototrófica de la columna de agua eventualmente finaliza en la superficie de los sedimentos y es incorporado en el registro fósil, ya que la degradación más extensiva de pigmentos se lleva a cabo durante la depositación a través de la columna de agua y en la superficie de los sedimentos especialmente si la luz y el oxígeno están disponibles (Reuss, 2005; Vuillemin *et al.* 2016).

Los pigmentos preservados en los sedimentos de los lagos son derivados de múltiples recursos como el fitoplancton, macrófitas bentónicas, vegetación terrestre y entrada de perifiton (Reuss, 2005; Huo *et al.* 2019; Yang *et al.* 2019). La clorofila “a” es usado como un indicador general de la biomasa de fitoplancton junto con β - caroteno, el cual es conocido por ser más estable en el tiempo, mientras que echinenona, canthaxantina y zeaxantina son usados como potenciales proxies para la abundancia de cianobacterias (Reuss, 2005; Deshpande *et al.* 2014; Zastepa *et al.* 2017). Estudios han mostrado una fuerte correlación de echinenona y canthaxantina, los cuales son considerados como indicadores menos ambiguos de la dinámica de cianobacterias que la zeaxantina, ya que la zeaxantina ha sido correlacionada con la luteína y ambos son pigmentos secundarios de las clorofitas (Reuss, 2005; Moir *et al.* 2018; Demoulin *et al.* 2019).



Sin embargo, la zeaxantina aparece ser un consistente marcador de cianobacterias no coloniales, por su parte las canthaxantinas se originan a partir de las cianobacterias nostocales, un orden de cianobacterias filamentosas que incluyen a *Dolichospermum* y *Aphanizomenon* (Deshpande *et al.* 2014; Gushulak *et al.* 2021). Los pigmentos alloxantina y crocoxantina son usados como indicadores para la firma de pigmentos de cryptophytas, mientras que diadinoxantina y diatoxantina son utilizadas para representar la biomasa de diatomeas (Reuss, 2005; Favot *et al.* 2019). No obstante, este último se ha identificado también en los dinoflagelados, por su parte las fucoxantinas utilizadas como indicador para diatomeas, chrysophytas y dinoflagelados y la luteína para chlorophytas (Reuss, 2005; Deshpande *et al.* 2014; Tonno *et al.* 2019).



Estudios recientes confirman la utilidad de los pigmentos sedimentarios para conocer los efectos del clima a largo plazo sobre el funcionamiento biológico de los lagos (Reuss, 2005; Richardson *et al.* 2019). Por lo que de acuerdo con Pal *et al.* (2015) y Nwosu *et al.* (2021), resulta útil reconstruir la tendencia histórica de ensamblajes de cianobacterias en los núcleos de sedimento, a través de ADN en microfósiles y análisis de pigmentos. Asimismo, algunas cianobacterias generan restos de quistes como los aquinetos con células de pared gruesa o restos de colonias, las cuales presentan una alta preservación y son adecuados para estudios paleolimnológicos. No obstante, no todas las taxas se preservan bien en los sedimentos, por lo que varios pigmentos carotenoides han sido utilizados como

proxies de la abundancia de las algas y las cianobacterias (Pal *et al.* 2015; Pearman *et al.* 2021). En ese sentido, el análisis de ADN a través del potencial cuantificador de cianobacterias gen 16S ARNr como proxy para la abundancia de cianobacterias y la aplicabilidad de técnicas moleculares en estudios paleolimnológicos, así como análisis de pigmentos en los núcleos de sedimentos representan diferentes métodos de registro para el seguimiento histórico de las cianobacterias a escalas de tiempo histórico (Martínez de la Escalera *et al.* 2014; Pal *et al.* 2015; Epp *et al.* 2019; Dussex *et al.* 2021).

Como resultado de este proyecto, se espera encontrar un incremento en la biomasa y en la diversidad filogenética de las cianobacterias como respuesta a condiciones ambientales favorables tanto de temperatura como de nutrientes, la cual se espera sea observada durante la Anomalía Cálida Medieval y finales de la antropoceno, contrario al período que corresponde a la Pequeña Edad de Hielo, con condiciones ambientales desfavorables para este grupo. Asimismo, se espera encontrar cambios en la composición taxonómica durante la duración de estos períodos.

En relación a los pigmentos sedimentarios se espera encontrar un incremento de los indicadores o proxies de la abundancia de cianobacterias, tales como Zeaxantina, Equinenona, Canthaxantina y Myxoxanthofila para períodos cálidos acompañado con cargas de nutrientes, encontrándose posiblemente variaciones

en períodos menos favorables de bajas temperaturas y con menos cargas de nutrientes.

LAGUNA GRANDE Y LAGUNA CHICA DE SAN PEDRO

El sistema lacustre de San Pedro se encuentra conformado por las Lagunas Grande (LGSP) y Chica de San Pedro (LCSP), localizadas en la vertiente noroccidental de la cordillera de Nahuelbuta y al sur de la desembocadura del Río Biobío en la comuna de San Pedro de la Paz, centro-sur de Chile. El clima predominante es del tipo Mediterráneo con estación seca prolongada y lluvias concentradas en la estación invernal, formando parte la llanura de San Pedro, la cual es una antigua planicie costera formada durante el Cuaternario (Cisterna et al. 1997; Cisternas et al. 2000; Fagel et al. 2010; Martínez et al. 2016).



La formación de los sistemas lacustres se debió al represamiento de la sedimentación aportada por los acantilados de la cordillera Nahuelbuta, además de los aportes provenientes de las arenas basálticas depositadas por el río Biobío y que constituyeron la formación del delta del río y la planicie costera de Coronel, permitiendo la formación de humedales costeros, pantanos y marismas y el asentamiento de la comunidad de San Pedro de la Paz (Dobry et al. 1966; Urrutia, et al. 2000; Islas et al. 2012; Martínez et al. 2016).

Laguna Grande y Laguna Chica de San Pedro presentan fuertes pendientes en sus bordes, principalmente en las riberas sur, este y oeste, mientras que hacia el norte presentan pendientes suaves constituidas por arenas basálticas (Cisternas et al. 2000). La Laguna Grande posee un área de cuenca de 12,5 km², con un área de espejo de agua de 1,55 km² una profundidad de 13 metros, mientras que Laguna Chica presenta un área de su cuenca hidrográfica de 4,5 km², una superficie de 0,87 km² y una profundidad de 18 metros (Cisternas et al. 2000; Barra et al. 2001; Parra et al. 2003).

Estas lagunas junto al humedal Los Batros han servido como ecosistema natural que alberga una diversidad importante de especies de peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos, siendo de gran atracción turística para la región (Pedreros-Guarda et al. 2021). De igual manera, posee una condición de servicios ecosistémicos con relevancia para la región, en donde se destacan con una mayor valoración los servicios culturales, seguido por los de regulación (hídrica, hábitat, de control de desastres naturales y contaminación) y en menor proporción los servicios de provisión cuyo grado de importancia se basó en la utilización de agua dulce (Rojas et al. 2016).



De acuerdo a su valor ecológico y a sus servicios ecosistémicos, la Laguna Grande y el Humedal Los Batros fueron declarados como “Santuario de la Naturaleza Laguna Grande – Humedal Los Batros”, publicado por el Diario Oficial bajo Decreto No. 42 del Ministerio del Ambiente. Su finalidad de conservación

pretende conservar las diferentes especies nativas y endémicas de la región (Ministerio del Medio Ambiente, 2022).

La comuna de San Pedro de la Paz ha mostrado un alto crecimiento poblacional en las últimas décadas, siendo de las que más ha crecido en superficie dentro del Área Metropolitana de Concepción, con una población aproximada de 165.442 habitantes para el año 2022. Población estimada en base a los resultados del censo del 2017 (131.808 habitantes y tasa de crecimiento anual del 3,3%) (Guzmán, 2021). Registros de su población desde 1952 muestran una población de 1.574 habitantes aumentando gradualmente hasta el presente, como un distinguido incremento de la población de la comuna de San Pedro a partir de la década de 1960, cuando se establecieron los primeros asentamientos poblacionales urbanos (Urrutia et al. 2000; Guzmán, 2021).



Urrutia et al. (2000) destacan cuatro grandes periodos de intervención por cambios en el uso de suelo en los últimos 500 años en la región de los sistemas lacustres de San Pedro de la Paz. El primero destacado por ocasionales quemas de la vegetación y actividades agrícolas derivadas por la creación de la ciudad de Concepción (1550) y la construcción del fuerte de San Pedro (1603). El segundo periodo comenzó a inicios del siglo XIX y fue caracterizado por una intensiva actividad agrícola, principalmente por la cosecha de cereales (producción de trigo) con un mayor auge para 1848. El tercer periodo se caracterizó por las primeras plantaciones de especies exóticas de pino y eucalipto para el suministro de madera utilizados por la empresa minera de carbón Lota, y por último el cuarto

periodo diferenciado por los asentamientos humanos en la cuenca de las lagunas a partir de 1968 hasta el día de hoy.

Actualmente, el cambio en el uso de suelo en el área de las cuencas hidrográficas de la Laguna Grande y Chica, muestran un elevado porcentaje ocupado por las plantaciones forestales (57% y 47%, respectivamente) en comparación a la presencia de bosque nativo (9% y 4%). Se denota un marcado cambio en el uso de suelo en la región favoreciendo el incremento de las urbanizaciones, las cuales llegan alcanzar un porcentaje del 9% para ambas cuencas asociadas al incremento poblacional de la comuna de San Pedro de la Paz (Guzmán, 2021).

Mayor detalle de las características de la Laguna Grande y Chica de San Pedro se muestran en el Capítulo I de la presente tesis: Late Holocene paleoenvironmental evolution of two coastal lakes in Mediterranean Chile and its implications for conservation planning.



HIPÓTESIS

En base a las reconstrucciones climáticas en el último milenio, la Anomalía Cálida Medieval (MCA) (c. AD 950-1350) ha sido descrita como un período notable de calentamiento donde las temperaturas en el hemisferio sur (verano austral), inclusive fueron más cálidas que las del siglo XX (IPPC, 2014). En ese sentido se postula la siguiente hipótesis:

Si eventos climáticos pasados produjeron condiciones de incremento de temperatura similares a las actuales, entonces durante esos períodos se habría visto favorecido el desarrollo de floraciones de cianobacterias en cuerpos de agua lacustres.



OBJETIVOS

Objetivo General

Reconstruir eventos de floraciones de cianobacterias durante los últimos 1000 años, con énfasis en la Anomalía Cálida Medieval, Pequeña Edad de Hielo y Antropoceno, en la Laguna Grande y Chica de San Pedro.

Objetivos Específicos

1. Caracterizar limnológicamente ambos sistemas mediante análisis comparativo a través de información bibliográfica histórica.
2. Caracterizar las columnas de sedimento usando diferentes indicadores sedimentológicos (materia orgánica, susceptibilidad magnética y granulometría) e indicadores biológicos (sílice biogénica) provenientes de la Laguna Grande y Chica de San Pedro.
3. Determinar la presencia de cianobacterias y otras comunidades algológicas mediante análisis de pigmentos sedimentarios de los núcleos provenientes de la Laguna Grande y Chica de San Pedro.
4. Determinar la composición taxonómica de cianobacterias a lo largo de la columna de sedimento mediante ADN antiguo y aplicación de técnicas moleculares de ambas lagunas.



CAPÍTULO I:

Late Holocene paleoenvironmental evolution of two coastal lakes in Mediterranean Chile and its implications for conservation planning

Isis-Yelena Montes^{1,2*}, Andy Banegas-Medina^{1,2}, Nathalie Fagel³, Meriam El Ouahabi³, Elie Verleyen⁴, Denisse Alvarez^{1,5}, Fernando Torrejón¹, Sabine Schmidt⁶, Gilles Lepoint⁷, Gustavo Diaz¹, Pablo Pedreros¹, and Roberto Urrutia¹

¹ Department of Aquatic Systems, Faculty of Environmental Science, Centre of Environmental Science EULA-Chile and CHRIAM Water Research Centre, Universidad de Concepción, P.O. box 160-C, Concepción, Chile; imontes@udec.cl (I.-Y.M.); bbanegas@udec.cl (A.B.-M.); dealvarez@udec.cl (D.A.); ftorrejo@udec.cl (F.T.); gusdiaz@udec.cl (G.D.); papedrer@udec.cl (P.P.); rurutia@udec.cl (R.U.).

² Department of Sciences, Laboratory of Biology, Danlí Technological Campus, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Panamerican Highway km 95, Danlí, Honduras.

³ Departement of Geology, AGEs, University of Liège, Liège, Quartier Agora, allée du six Août 14, 4000 Liège, Belgium; nathalie.fagel@uliege.be (N.F.); meriam.elouahabi@uliege.be (M.E.).

⁴ Department of Biology, Laboratory of Protistology and Aquatic Ecology, Ghent University, Krijgslaan 281-S8, B-9000 Ghent, Belgium; Elie.Verleyen@UGhent.be (E.V.).

⁵ Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás. Concepción, Chile.

⁶ CNRS, Univ. Bordeaux, EPOC, EPHE, UMR 5805, F-33615 Pessac, France; sabine.schmidt@u-bordeaux.fr (S.S.).

⁷ Laboratory of Oceanology, Freshwater and Oceanic Science Unit of Research (FOCUS), University of Liège, Quartier Agora, allée du six Août 11, 4000 Liège Liège, Belgium; g.lepoint@uliege.be (G.L.).

Correspondence: imontes@udec.cl

Applied Science 2021, 11(8) 3478; <https://doi.org/10.3390/app11083478>

Recibido: 23 de febrero de 2021

Aceptado: 28 de marzo de 2021

Publicado: 13 de Abril de 2021

Abstract: Paleolimnological reconstructions from the mid and high latitudes in the Southern Hemisphere are still relatively scarce. Anthropogenic impacts have evidenced trophic state changes and an increase of cyanobacteria bloom in the lacustrine system of San Pedro de la Paz in the last decades. Here we reconstructed primary production and sedimentological changes spanning the past 2500 years in two coastal lakes in Mediterranean Chile. A multiproxy approach including sedimentological, biogenic silica, carbon and nitrogen isotopes and fossil pigments analysis in sediment cores was performed in Laguna Grande (LGSP) and Laguna Chica de San Pedro (LCSP). A marked change in the sedimentology of the lakes occurred around 1 AD likely related to the terrigenous sediment inputs derived from alternations in their hydrology and natural processes in the catchments. A period of low primary production was also identified between 850 and 1050 AD for LCSP evidenced by a decrease in TOC, TON, $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$, Bsi and in the pigments such as Pheophytin-a and low values of Alloxanthin and Canthaxanthin, suggesting high precipitation and warm conditions possibly related to El Niño-like conditions between 650 and 950 AD (Fletcher & Moreno 2012; Garreaud et al. 2009; Martel-Cea et al. 2016).

Recent decades evidenced increases of primary production probably resulting from anthropogenic disturbances. These likely include the clearance of native vegetation, the introduction of exotic tree species, and urbanization, which in turn resulted in nutrient inputs and hence eutrophication. We conclude that an integrated management program for both lakes is urgently needed.

Keywords: *Lacustrine sediments, algal pigments, multi-proxy, reconstruction, environmental changes.*



1. Introduction

Lake sediments are archives of past variations in biological communities which respond to environmental and climate change that vary in time and space [1-5]. Such records are particularly lacking in the Southern Hemisphere [6-8]. The Mediterranean coast of Chile corresponds to a climatic and vegetational transition zone and is considered as a sensitive area to interpret environmental changes due to anthropogenic impacts and climate alternations [6,9-12]. Indeed, historical records have emphasized the influence of anthropogenic activities on lakes in the region over the last 500 years [13,14]. More in particular, intensive periods of land use, clear-cutting of native forest, and the replacement by exotic plantation forestry (*Pinus radiata* and *Eucalyptus spp.*), urbanization, industrialization processes have caused changes in the trophic status, chemical composition and lakes water quality [13-16].

Regional studies in the Chilean Mediterranean Zone revealed that the prehispanic native cultures had no significant impact on land use [17]. However, since the mid-sixteenth century, Spanish colonisation induced disturbances on the

natural landscape. The introduction of the Mediterranean Hispanic Model of agriculture-livestock resulted in pronounced land-use changes [18,19]. In addition, the urbanisation of the coastal zone has intensified over the last decades, generating a significant increase of nutrient inputs to watersheds, leading to gradual environmental degradation and an increase in phytoplankton productivity [13,16,20-23]. For example, diatom studies in Laguna Grande and Laguna Chica (San Pedro de la Paz, Biobío region, south-central Chile) revealed that their trophic state changes occurred after the Spanish arrival [13,20,22]. Moreover, cyanobacterial blooms have been detected in Laguna Grande in the last decades [24], which is likely related to the recent increase in temperature due to global warming and increased nutrient concentrations [25-27].

However, few studies focused on long-term changes in the entire phytoplankton community have been considered in Chilean coastal lakes to explain their response to environmental conditions [6,9,28-30]. Sedimentological and biological proxies such as (sub) fossil remains, total organic carbon concentration, C and N stable isotopes and phytoplankton pigments can provide valuable information on past changes in primary production and the phytoplankton community structure [7,31-39]. Phytoplankton pigments have the advantages they also allow to study of soft-bodied organisms which do not readily fossilise. A disadvantage is that pigments are relatively sensitive to degradation in response to high irradiance, oxygen concentrations, bacterial activity, grazing and high temperatures [35,40-45]. Nevertheless, once buried in suitable conditions (anoxic sediments), pigments can be preserved for thousands of years [42,46-48]. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen and the atomic C/N ratios can provide insights about the origin of organic matter in aquatic ecosystems, vegetation sources, aquatic algae proportions or terrestrial organic matter. Moreover, they are used to interpret paleoenvironmental changes in lakes and their watersheds [4,49-52].

This paper is aimed at reconstructing primary productivity during the late Holocene to the present-day based on a multiproxy approach, which includes the sedimentological description, biogenic silica, carbon and nitrogen isotopic composition and fossil pigments in two Mediterranean coastal lakes in Chile, namely Laguna Grande and Chica de San Pedro. We focussed on the late Holocene because this period is characterised by profound land-use changes in the region [9,10,19,23].

2. Materials and Methods

Study area

The study area is located within the lacustrine system of San Pedro de la Paz, Biobío region, in south-central Chile [13,15]. The lacustrine system comprises two lakes: i.e., Laguna Grande (36°51' S; 73°06' O; 4 m.a.s.l.) and Laguna Chica (36°51' S; 73°05' O; 5 m.a.s.l.), onwards LGSP and LCSP, respectively. Both lakes

are part of an ancient coastal plain formed during the Quaternary [53,54]. The formation of the lakes is still largely unknown, but Martinez et al. [55] reported that both lakes were developed within the valley of ancient rivers that once drained to the Pacific Ocean. Subsequently, they were dammed due to the sedimentation contribute by the cliffs of the Nahuelbuta mountain range during the late Pleistocene/early Holocene. Also, basaltic sands transported from the headwater to the Biobio river's mouth originated by the Antuco Volcano (lake Laja) contributed to the Biobio river delta formation and the Coronel coastal plain. These fluvial sediments were deposited at the north of the lakes as part of their geomorphological formation [55-57].

The lakes are located on the northwestern slope of the mountain range of Nahuelbuta, close to the Pacific Ocean and the south of Bio bio River mouth [57] (Figure 1). The LGSP is a shallow lake with a 12.5 km² of the drainage basin, 1.55 km² of surface area and 13.5 m of maximum depth. Similarly, the LCSP is a small lake with 4.5 km² of the drainage basin, 0.87 km² of surface area with 18 m of maximum depth [13,18,57] (Table 1). Both systems show sharp slopes at the west, south and east sides, and soft slopes towards the north coast [13,55]. To date, the phytoplankton communities are dominated by Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Desmidiaceae and Cyanophyceae (Table 1).

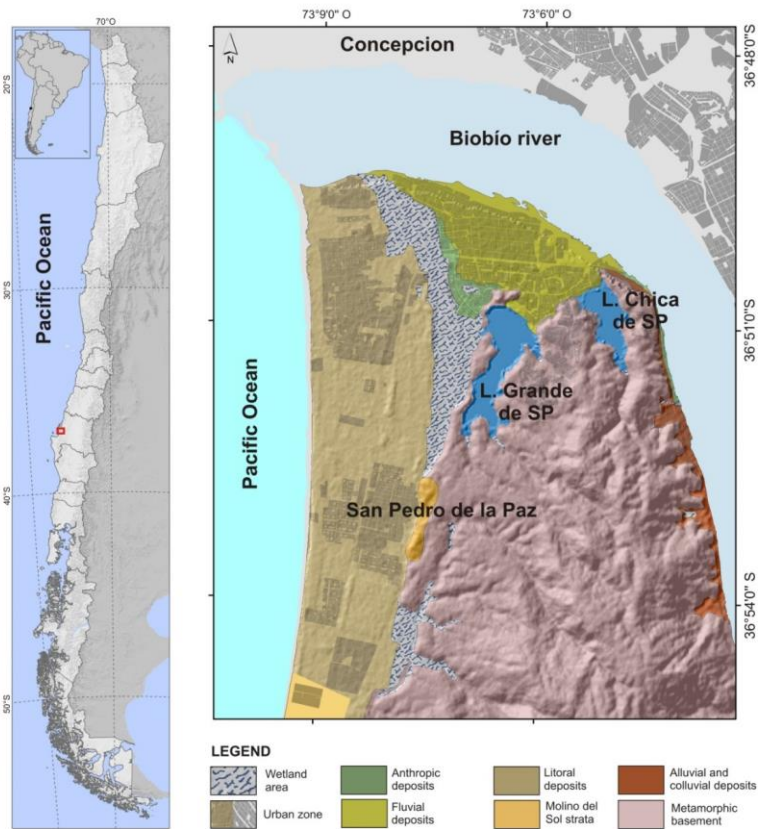


Figure 1. Study area of the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro.

Table 1. Summary of environmental, physico-chemical and biological characteristics of the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro (Parra 1989; Araneda et al. 1999; Cisternas et al. 2000; Barra et al. 2001; Parra et al. 2003; Campos et al. 2005; Almanza et al. 2016).

	Laguna Chica	Laguna Grande
Latitude	36°51'	36°51'
Longitude	73°05'	73°06'
Altitude (m.a.s.l.)	5	4
Lake area (km ²)	0.82	1.55
Watershed area (km ²)	4.5	12.7
Maximum depth (m)	18	13.5
Volume (m ³ x10 ⁶)	8.64	12.9
Native forest and shreds	27.1%	5.7%
Forest plantations	48.9%	52.4%
Agriculture	3.4%	1.0%
Urban area	4.9%	4.1%
Water transparency (m)	5.2 (3.8-6.8)	3.7 (3.0-6.1)
Water temperature °C (min-max)	17.4 (12.5-24.0)	18.1 (12.2-24.0)
Annual mean precipitation (mm)	1.235 mm	1.235 mm
pH	7.0 (6.5-7.73)	7.0 (6.5-7.6)
Conductivity (µS/cm)	70.6 (50.0-89.6)	84.1 (35.0-107.4)
Dissolved oxygen (mg/L)	9.2 (5.9-10.9)	8.8 (4.9-10.7)
Alcalinity (meq/L CaCO ₃)	0.4 (0.4-0.5)	0.5 (0.5-0.6)
TDS (mg/L)	42.3	52.6
P-total (mg/L)	0.02	0.05
N-total (mg/L)	0.17 (0.06-0.32)	0.23(0.08-0.34)
Chlorophyll a (µg/L)	1.20	6.42
Primary productivity (mgC/m ³ /hr)	2.44	22.68
Trophic state	Mesotrophic-Eutrophic	Eutrophic-Hypereutrophic
Macrophytes	Abundant	Major abundance
Summer stratification	Yes	No
Phytoplankton richness	39	57
Main phytoplankton groups	Bacillariophyceae Chlorophyceae Desmideaceae Cyanophyceae	Chlorophyceae Bacillariophyceae Desmideaceae Cyanophyceae
Reports of Cyanobacteria	<i>Microcystis</i> sp. (blooms) <i>Dolichospermum</i> sp. <i>Merismopedia</i> sp. <i>Oscillatoria</i> sp. <i>Aphanocapsa</i> sp.	<i>Microcystis</i> sp. (blooms) <i>Dolichospermum</i> sp. <i>Pseudoanabaena</i> sp. <i>Gomphospheria</i> sp. <i>Chroococcus</i> sp. <i>Snowella</i> sp.

Mean (min-max)

Sampling and sedimentological analysis

Duplicate sediment cores were collected in January of 2016 at the central and the deepest part of LGSP (13.5 m) and LCSP (18 m). The cores were obtained using a UWITEC gravity corer equipped with a 6 cm diameter plexiglass tube, covered with aluminium foil to protect from sunlight and stored at 4°C until the analyses. The cores were upward sectioned homogenized freeze-dried and homogenised using a mortar and pestle to analyse biogenic silica and fossil pigments. For determination of the stable isotopes, the samples were oven-dried and homogenised using a mortar and pestle before the analysis. The magnetic susceptibility (MS) was measured at 1 cm intervals using the Bartington MS2E sensor and the Multisus v2.44 software. The biogenic silica (BSi) was performed with the alkaline extraction method and determined by molybdate-blue spectrophotometry [58].

The grain-size analysis was performed using a Malvern Mastersizer 3000 laser particle size analyser. 5 mg of each sediment layers were treated with H₂O₂ (30%) in a thermal bath to remove the organic matter and then combined with distilled water to suspend sediments uniformly prior to analysis. The percentage by volume of each size fraction was analysed using the Gradistat program to determine conventional particle size statistics [59,60]. These analyses were conducted in the laboratory of Paleolimnology and the laboratory of Environmental Sciences Center EULA-Chile at the University of Concepción, Chile.



Sediment core dating

The chronology of the sediment cores of LGSP and LCSP was established by combining ²¹⁰Pb, ¹³⁷Cs and ¹⁴C. Short-lived radioisotope activities were measured by spectrometry using a low-background well-shaped high-efficiency, well type germanium spectrometer equipped with a Cryo-Cycle in the laboratory Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (EPOC), Université de Bordeaux, France. The activities of ²¹⁰Pb_x in excess (²¹⁰Pb_{xs}) and ¹³⁷Cs were analysed downcore until negligible values, which were at about 20 and 14 cm for LGSP and LCSP, respectively. The AMS radiocarbon analyses (¹⁴C) were performed on the bulk sediment samples, selecting three samples for LGSP and LCSP. These values were calibrated with Oxcal 3.10 [61] using the calibration curve SHCal 13 [62]. Mass accumulation rates (MAR, expressed in g m⁻² cm⁻¹) were obtained by plotting the regression of ²¹⁰Pb_{xs} against cumulative mass and were used to calculate sediment ages. This approach assumes that the sediment surface represents the year of core acquisition. The artificial radioisotope ¹³⁷Cs was used as an independent time marker in order to validate the ²¹⁰Pb age model. All the ¹⁴C and ²¹⁰Pb_{xs} dates were logged to the Clam code [63] using the R software [64] to obtain the chronological model. A cubic spline and linear interpolation allowed estimating the ages of undated levels.

Stable isotopes

The analysis of stable isotopes of carbon and nitrogen was performed using an IsoPrime100, isotopic ratio mass spectrometry (Isoprime,UK) coupled in a continuous flow to a Vario Micro cube elemental analyser (Elementar, Germany) at the Laboratory of Oceanology, Institute of Chemistry, Université de Liege, Belgium. The isotopic values are expressed as δ values in ‰. Accuracy was obtained on 7, and 10 replicates for LGSP and LCSP, respectively, performed on samples and standards, i.e. standard atropine value (0.5 ‰ C and 0.4‰ N), IAEA-CH6 sucrose ($\delta^{13}\text{C} = -10.4 \pm 0.2\text{‰}$) and IAEA-N1 ($\delta^{15}\text{N} = +0.4 \pm 0.2\text{‰}$). The samples were acidified with HCl to remove inorganic carbonates to avoid any modification of nitrogen isotopic signature [65-68].

Pigment analysis

Thirty samples of freeze-dried sediments were extracted from sediments in the cores of both lakes. A solution of 90% of acetone was added to the samples, and sonication was used for the extraction (1 min per sample and let the extract overnight by 4°C in dark conditions). The analyses were performed using the Agilent 1100 HPLC (high-performance liquid chromatography), pump, auto-sampler, DAD-diode-array detector and Agilent Eclipse XDB-C8 column [69]. The pigments were identified and quantified based on the retention time and specified spectrum of each pigment. They were calibrated using standard pigments provided by DHI Denmark.

The individual pigments concentrations were calculated using the response factors of standard pigments, expressed as dry-mass specific concentrations (μg pigment per mg dry sediment) [32,70-72]. The fossil pigments were assigned to their respective taxonomic groups. Chlorophylls, mainly composed of chlorophyll-a (chl-a), were used as an indicator of total photosynthetic algal concentration and higher plants. Chlorophyll-b (chl-b) reflects the presence of green algae and higher plants [72]. The carotenoids zeaxanthin, canthaxanthin and echinenone, were used as indicators of cyanobacterial abundance (Cyanophyta). Lutein was used as a signature of green algae, euglenophytes and higher plants [34]. Alloxanthin is a measure of cryptophytes, and diatoxanthin occurs in diatoms, dinoflagellates and chrysophytes. Chlorophyll degradation products were mainly represented by phaeophytin-a and phaeophorbide-a [38,69-73]. These analyses were performed in the Laboratory of Protistology and Aquatic Ecology, Ghent University, Belgium.

Statistical analysis

The total chlorophyll was estimated by calculating the sum of the-a and their degradation products (Phaeophorbide and Phaeophytin). Each pigment was divided by total chlorophyll to obtain pigment proportions. The carotenoid pigments were calculated considering the total carotenoids as the sum of zeaxanthin,


canthaxanthin, echinenone, lutein, alloxanthin and diatoxanthin [31,73,74]. Pigment fluxes were treated as proxies of phytoplankton abundance using the sedimentation rate [74,75].

3. Results

Age model

Radiocarbon ages from LGSP and LCSP cores are summarised in Table 2 and represented in Figure 2. The obtained ages maintain a stratigraphic order throughout the profile in both cores, covering the past 5000 years within 80 cm for LGSP and 2500 years within 116 cm for LCSP. The ^{14}C age model in LCSP is poorly resolved. Profiles of $^{210}\text{Pb}_{\text{xs}}$ show an exponential decrease in activities, from 40 mBq g^{-1} for LGSP and 60 mBq g^{-1} for LCSP in the uppermost sediments to negligible values in depth (Figure 2a and 2c). ^{137}Cs profiles in the two lakes present a peak at 12 cm ($1965 \pm 5 \text{ AD}$) for LGSP and 5 cm ($1965 \pm 8 \text{ AD}$) for LCSP, respectively (Figures 2b and 2d), in close agreement with the well-known pulse inputs related to the nuclear weapon test fallout in the early sixties (maximum atmospheric fallout is in 1965 in the Southern Hemisphere) [75].

Table 2. Radiocarbon date of bulk sediments from the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro.



Lab code	Lake	Core depth (cm)	^{14}C yr BP $\pm 1\sigma$	Calibrate age BC/AD		
				Min	Mean	Max
ETH – 70456	Laguna grande	41	1707 ± 23	339	385	431
ETH – 70457	Laguna grande	51	2276 ± 24	-325	-267	-209
ETH – 70458	Laguna grande	71	3467 ± 25	-1780	-1707	-1635
D-AMS 025916	Laguna Chica	54.5	936 ± 26	1129	1172	1216
D-AMS 025914	Laguna Chica	116.5	2482 ± 43	-599	-503	-407

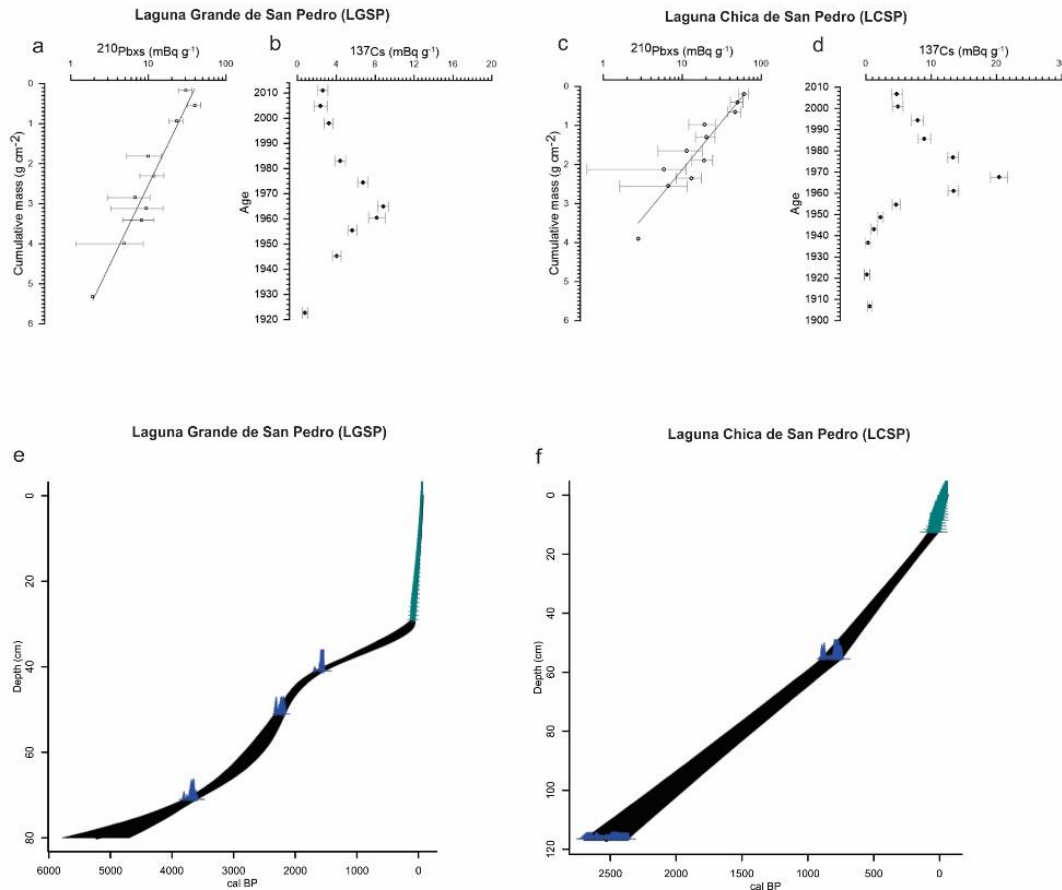


Figure 2. Chronology of the top centimetres of the Laguna Grande (a, b, e) and Laguna Chica (c, d, f) de San Pedro. The dark line represents the age model, while the grey shades represent the estimated errors, and the vertical and grey lines indicate the coring year.



Lithological description

The sediment cores from LGSP and LCSP are characterised by two main units (Figure 3). In both cores, the lower section is characterised by a light grey to beige coarser layer with higher MS values, whereas silty clay sediments compose the upper finer section. In LGSP (Figure 3a), the basal unit (58 - 47 cm) is mainly composed of silty sand. The sand fraction $> 63 \mu\text{m}$ averaged $14.5 \pm 3.8\%$ (Table 3). The highest MS values compared to the rest of the sediment core, averaged $299 \pm 149.9 \times 10^{-8}$. TOC and TN displayed a gradual increase from the bottom upwards, from 0.5 to 1.7‰ and 0.05 to 0.17‰, respectively. BSi concentrations was low, ranging from 0.35 to 1.19% ($0.79 \pm 0.24\%$). The C/N ratio varied from 8.7 to 10.3 (9.4 ± 0.5). The $\delta^{13}\text{C}$ was stable, ranging between -25.8% to -26.2% ($\pm 0.3\%$). Slight variations of $\delta^{15}\text{N}$ values ranging from 3.04 to 5.01‰ ($3.63 \pm 0.4\%$) at the bottom with a maximum at 48 cm.

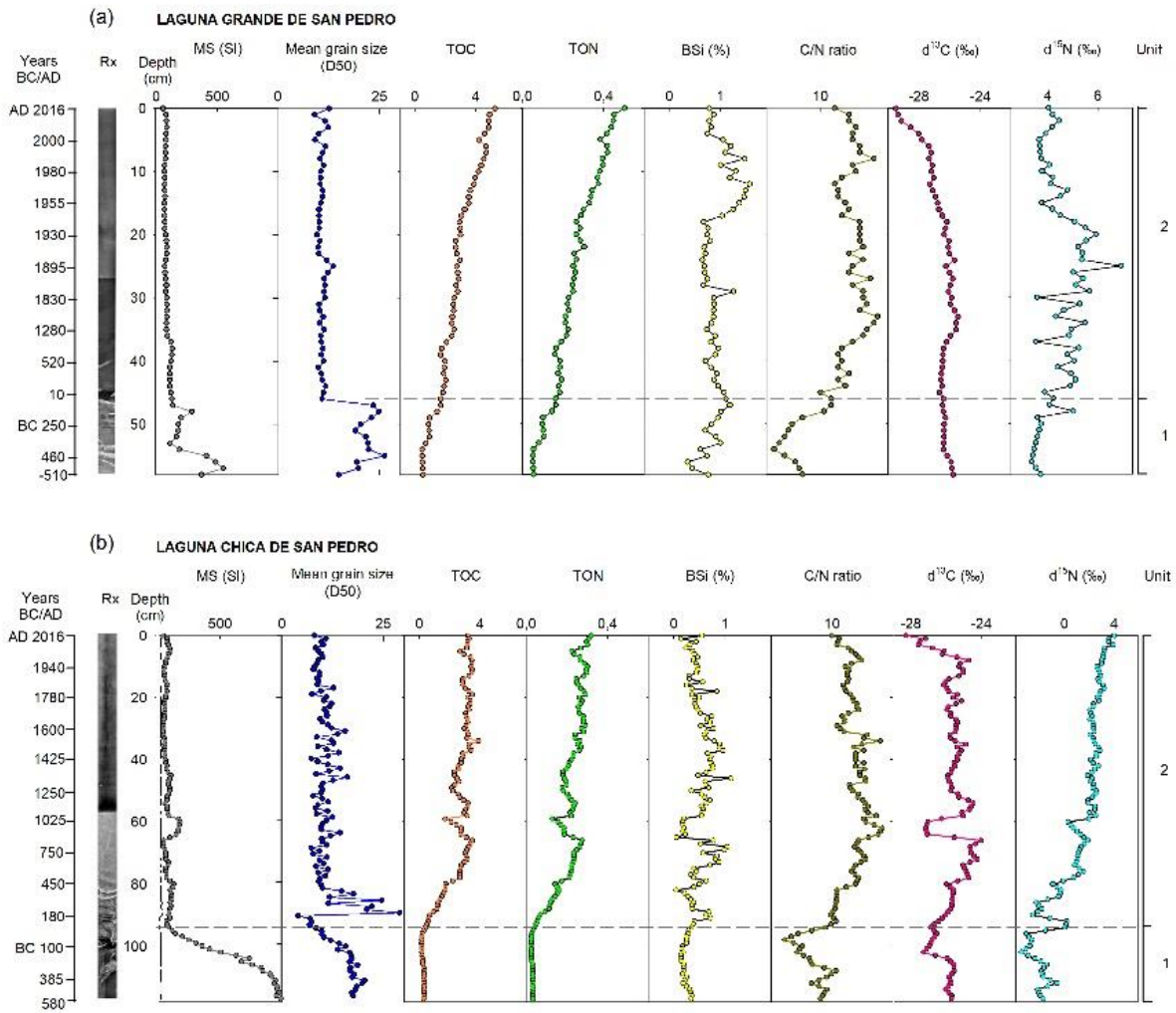


Figure 3. Depth profiles of magnetic susceptibility (SI), organic matter (%), biogenic silica (DD), TOC (weight %), C/N ratio atomic, $\delta^{13}\text{C}$ (‰) and $\delta^{15}\text{N}$ (‰) in sediment core of a) Laguna Grande de San Pedro (LGSP) and b) Laguna Chica de San Pedro (LCSP).

Table 3. Composition of the sediment grain-size (mean percentage \pm standard deviation) of the Laguna Grande (LGSP) and Laguna Chica de San Pedro (LCSP) described by lithological units

	Laguna Grande de San Pedro		
	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
UNIT 2 (46 - 0 cm)	7.12 \pm 0.83	90.75 \pm 1.95	2.03 \pm 2.38
UNIT 1 (60 - 47 cm)	4.64 \pm 0.91	80.88 \pm 4.13	14.48 \pm 3.76
	Laguna Chica de San Pedro		
	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
UNIT 2 (93 - 0 cm)	7.05 \pm 2.45	90.12 \pm 4.09	2.83 \pm 2.72
UNIT 1 (120 - 94cm)	4.68 \pm 1.62	87.82 \pm 2.86	7.50 \pm 2.65

In unit 2 (46-0 cm), the grain-size distribution was relatively stable, with a slight variation at the top of the core, with a high amount of silt fraction (~91%). Steady low MS values ($85.6 \pm 19.4 \times 10^{-8}$) were observed. Instead, TOC and TN profiles showed a gradual increase upward of this unit. Bsi concentrations showed distinguished increases at 29, 12 and 8 cm, while values more than ten in C/N ratios were found from 46 cm to the top of the core. $\delta^{13}\text{C}$ values were stable from 46 to 6 cm, with a trend toward more negative values from 7 cm to the top. $\delta^{15}\text{N}$ values showed marked variations, extending from 3.5 to 6.9‰ ($4.6 \pm 0.7\text{‰}$) with a significant increase at 24 cm.

Unit 1 (117-94 cm) for LCSP (Figure 3b) showed the highest mean values at the bottom of the core for the mean grain size distribution ($15.3 \pm 3.8\%$) and the MS profile ($642 \pm 329 \times 10^{-8}$). In contrast, the lowest values were observed for TOC and TN (0.25 ± 0.07 and 0.03 ± 0.005 , respectively). BSi displayed relatively constant values, with an average of $0.5 \pm 0.23\%$. The C/N ratio fluctuated from 5.4 to 10.4, while the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ showed more negative values at 102 cm. In unit 2 (94-0cm), the grain-size particle displayed variations throughout the core. Steady MS values were observed ($85.6 \pm 19.4 \times 10^{-8}$). A notable shift was observed in mean grain size, MS, TOC, TN, Bsi, C/N, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ between 66 and 58 cm.

Fossil pigments analysis

Ten fossil pigments were identified from the sediment core for LGSP (Figure 4a) and nine for LCSP (Figure 4b). Pigments concentrations were minimal in the sediment core's deepest part and increased toward the upper layers, mainly in the modern sediments. A relatively high abundance of chlorophyll-a and phaeophytin-a for LGSP were observed. The abundance of canthaxanthin, echinenone and alloxanthin remained relatively low over time. Notable values were measured at 54, 36 and 9 cm for zeaxanthin and diatoxanthin, while lutein showed an increase between 9 and 4 cm. Chlorophyll b was identified from 24 cm onwards, and phaeophorbide-a showed an increased trend upwards of the core since at 24 cm. The total flux of chlorophylls and carotenoids remained low since the bottom, but relatively high flux was found at the end of the core (Figure 4b).

LCSP is characterised by a dominance of chl-a, phaeophytin-a and phaeophorbide-a. The chl-b was detected at 61 cm. Zeaxanthin, canthaxanthin and lutein displayed a relatively low abundance. Alloxanthin and diatoxanthin decreased gradually from 69 cm to the top of the core. The chlorophylls and carotenoids fluxes were relatively low at the bottom and increased in the upper sediments.

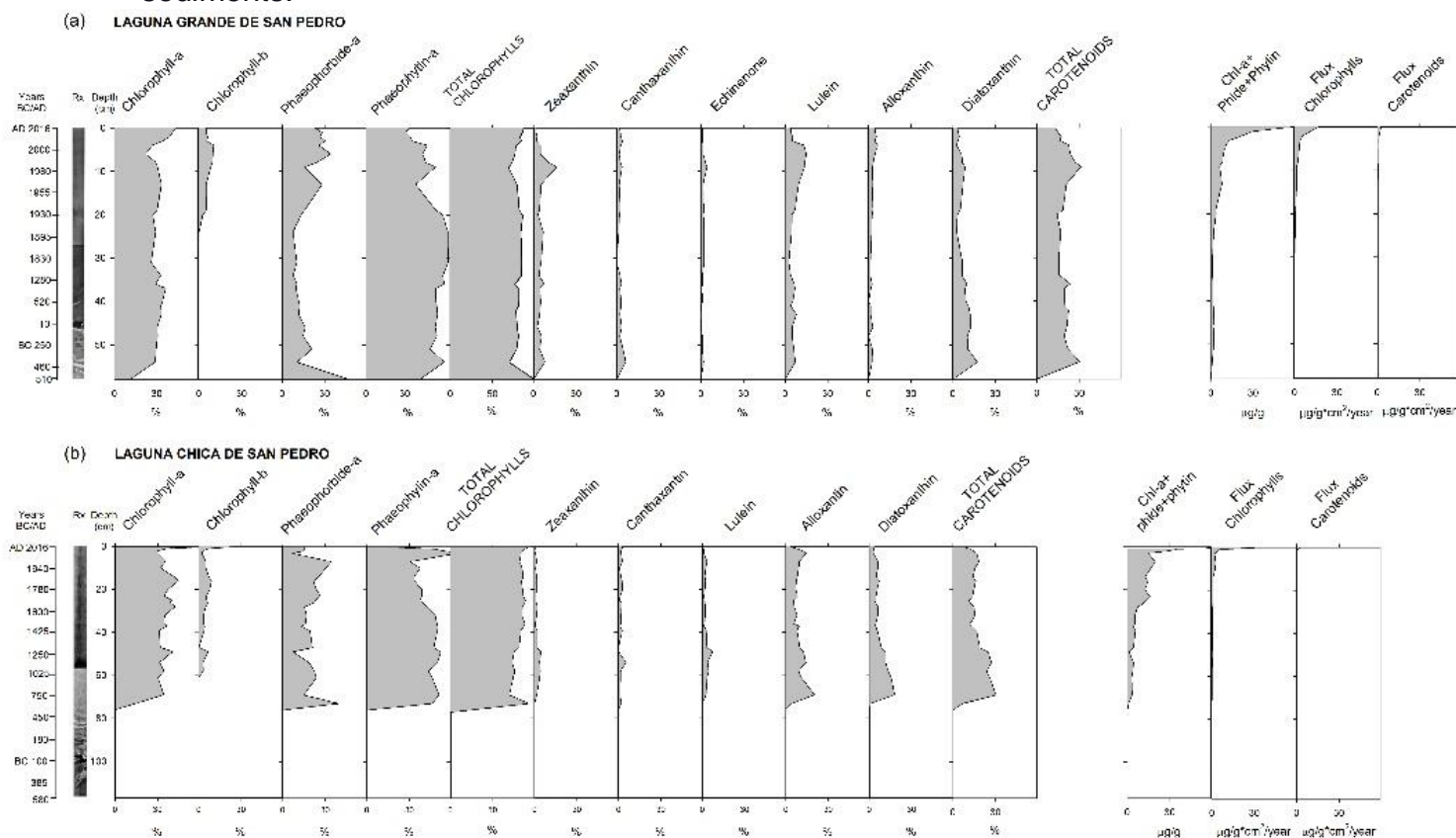


Figure 4. Fossil pigments stratigraphy of Laguna Grande (a) and Laguna Chica (b) de San Pedro sediment cores.

4. Discussion

Changes in sediment deposition

The changes in physical properties (mean grain size and magnetic susceptibility), as well as ^{137}Cs and ^{210}Pb excess activities, were used to correlated both cores (Figure 5). The maximum value of ^{137}Cs occurred at the 1965 AD and was observed to 12 cm for LGSP and 5 cm for LCSP. The limit value of ^{210}Pb in excess to 1888 AD was observed at 25 cm for LGSP and 14 cm for LCSP.

A sudden decrease in mean grain size and the magnetic susceptibility was observed to 48 cm for LGSP and 98 cm for LCSP.

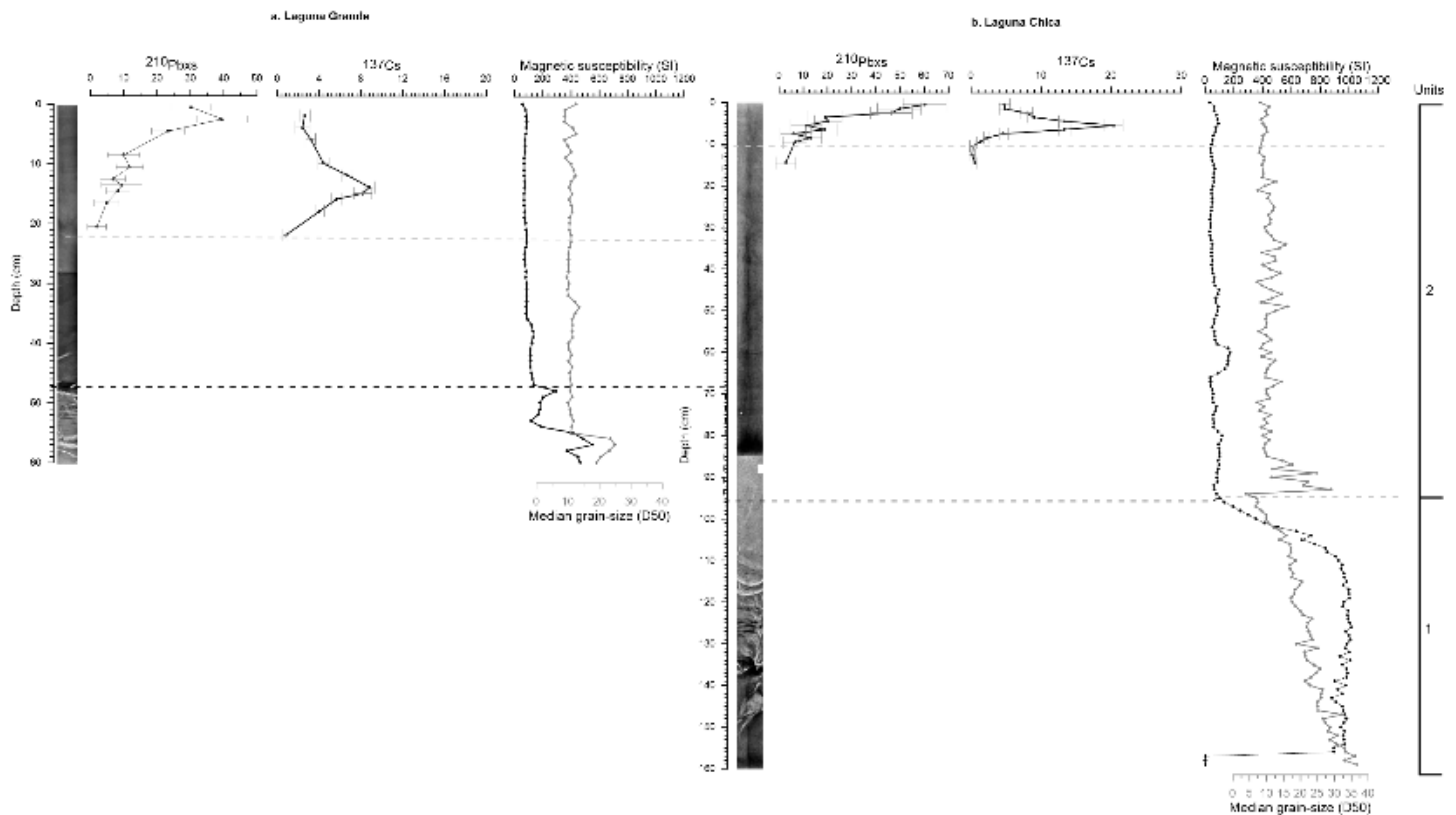


Figure 5. Correlation of ^{210}Pb , ^{137}Cs , magnetic susceptibility and grain size profiles of the Laguna Grande (a) and Laguna Chica (b) de San Pedro

The main sedimentological change (i.e., coarse grain size, high MS) observed at the base of both studied cores are related to change in the sediment supply at the local scale. According to the reconstructed age models, this change occurred within a similar time window, i.e. around 1 AD in both cores. The presence of the sandy sedimentation and the high magnetic susceptibility values could be attributed to significant changes in the terrigenous sediment inputs toward the lakes. No records have been reported previously about these changes. However, it could be interpreted as important hydrological fluctuations and natural processes related to changes in the catchments.

Late Holocene evolution of lake primary production

TOC increased from 0.96 to 5.25% in LGSP and from 0.16 to 3.18% in LCSP (Figure 3a and 3b) from 1 AD onwards. The TN concentration followed a similar pattern. While TOC and TN remained more or less constant in LCSP from 1 AD onwards, both proxies gradually increased in LGSP and reached a maximum during the present-day period. This gradual increase might suggest increased diagenetic processes with time leading to the gradual breakdown of organic matter. However, this gradual increasing trend is absent in the LCSP record, which is, by contrast, characterised by relatively lower values of TOC and TN, but also BSi and $\delta^{13}\text{C}$, between 850 and 1050 AD. These results might suggest precipitation and warm conditions coinciding with El Niño-like conditions between 650 and 950 AD (Fletcher & Moreno, 2012; Garreaud et al. 2009; Martel-Cea et al. 2016).

Concomitant with TOC and TN changes, the C/N ratio and $\delta^{15}\text{N}$ also increased from 1 AD and particularly from 450 AD and 520 AD in LCSP and LGSP, respectively. This might be related to an increased organic matter input derived from the catchment area of the lakes, but probably also increased the lake primary production as evidenced by the fossil pigment data. Indeed, fossil pigments were detected in LCSP from c. 450 AD onwards and were not present prior to this period. The carotenoids identified suggest the presence of cyanophyta chlorophyta, bacillariophyta and dinoflagellates (Figure 4a) in LCSP. In the LGSP, pigments were detected throughout the entire core, albeit at low concentrations prior to 1900 AD.

Interestingly, no obvious changes were present in the proxy records coincident and immediately after the Spanish colonisation around the middle of the XVI century (1536 - 1541 AD). It has been previously suggested that the development of Spanish settlements had a moderate impact on the pre-Columbian ecological landscape [76]. This colonisation likely generated alterations in the local natural landscape due to the cutting, introduction of intensive exotic crops (mainly wheat) and livestock of ungulates (horses, sheep and cattle) [14,17,21,23,24,76] that could favour the inputs of organic matter to the aquatic systems. This apparently had no impact on the proxy records in the studied lakes.

The most apparent changes in the proxy records occurred during the last few decades in both sediment cores. In particular, the C/N ratio and $\delta^{13}\text{C}$ decreased in both lakes, while the total chlorophyll and carotenoid concentrations increased. Combined, this suggests that primary phytoplankton production increased during the last decades. However, apart from an increase in Chl-b, no apparent changes were observed in the relative abundance of the other marker pigments apart from a slight decrease in diatoxanthin. Interestingly, this is more or less coincident with a reduction in BSi, which might suggest that diatoms and/or chrysophytes became less abundant while chlorophytes became more dominant (higher Chl-b) during the recent decades. It has to be noted, however, that the sharp rise in total pigments in

the most recent samples might reflect diagenesis and the degradation of pigments with time.

Nevertheless, given the coincident rise in pigment concentration and the change in the other proxies (i.e., C/N ratio and $\delta^{13}\text{C}$), we suggest that lake primary production increased during the most recent decades. This is consistent with a period of high sedimentation rates as described by Urrutia et al. [77] and Cisternas et al. [78] in LCSP from 1951 to 1968 AD, while Cruces et al. [13] described this period in LGSP from 1948 to 1972 AD, which coincided with a significant increase of hydrocarbons, fatty acids and organic matter. The dynamic changes observed for both LGSP and LCSP lakes could be linked to the increased urbanisation of the surrounding areas, and mainly the creation of Villa of San Pedro in 1962 [20], and the increase of summer houses for touristic and recreational activities on the banks of LCSP and LGSP [23].

5. Conclusions

A reconstruction of primary production based on multiproxy analyses in Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro provided essential information about changes during the last 2500 years. Terrigenous sediment inputs derived from hydrological fluctuations and natural conditions linked to changes in the catchment possibly generated a significant shift at the bottom of sediment cores around 1 AD. The fossil pigment concentrations and the stable isotopes suggest increased primary phytoplankton production in both lakes during the last decades. These are likely the result of local environmental conditions and human disturbances related to urbanisation, the cutting and replacement of native forest and commercial logging. Hence an integrated management program for these watersheds is highly needed.

Author Contributions: Conceptualization and methodology, I.-Y.M., A.B.-M., N.F., M. E. G.L., D.A., F.T. R.U.; software, I.-Y.M., M.E.,S.S., G.D., P.P.; validation, S.S. E.V., R.U.; formal analysis, I.-Y.M., A.B.-M., N.F., M. E, E.V. R.U.; investigation, I.-Y.M., A.B.-M., F.T.; writing—original draft preparation, I.-Y.M., A.B.-M.; writing—review and editing, I.-Y.M., A.B.-M., N.F., M.E., E.V. G.L, F.T., D.A., R.U.; visualisation, I.-Y.M., A.B.-M., G.D., P.P.; supervision, N.F., E.V., R.U.; project administration, I.-Y.-M.; funding acquisition, I.-Y.M., N.F. All authors contributed to the work. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the National Research and Development Agency (ANID, according to its initials in Spanish), the project ANID/FONDAP/15130015), the ERASMUS PLUS, and the Wallonie-Bruxelles International and the National Autonomous University of Honduras (UNAH, according to its initials in Spanish).

Acknowledgments: We would like to thank the Directorate for Scientific, Humanistic and Technological Research (DICIHT, according to its initials in Spanish), from the National Autonomous University of Honduras for sponsoring the publication, the Environmental Sciences Centre EULA-Chile laboratory and Ilse Daveloose for the contribution to the fossil pigment analysis (University of Ghent, Belgium).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Hakanson, L.; Jansson, M. Principles of lake sedimentology. Springer-Verlag. Berlin. 1983, 330. <https://doi.org/10.1002/iroh.19850700318>
2. Bertrand, S.; Boës, X.; Castiaux, J.; Charlet, F.; Urrutia, R.; Espinoza, C.; Lepoint, G.; Charlier, B.; Fagel, N. Temporal evolution of sediment supply in Lago Puyehue (Southern Chile) during the last 600 yr and its climatic significance. *Quat. Res.* **2005**, 64(2), 163–175. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2005.06.005>
3. Schindler, D.W. Lakes as sentinels and integrators for the effects of climate change on watersheds, airsheds, and landscapes. *Limnol. Oceanogr.* **2009**, 54(6 part 2), 2349–2358. <https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.6.part.2.2349>
4. Ahmad, K.; Davies, C. Stable isotope (d13C and d15N) based interpretation of organic matter source and paleoenvironmental conditions in Al-Azraq basin, Jordan. *J. Appl. Geochem* **2017**, 78, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2016.12.004>
5. Maberly, S.C.; O'Donnell, R. A.; Woolway, R. I.; Cutler, M.E.J.; Gong, M.; Ian D. Jones, I.D.; Merchant, C.J.; Miller, C.A.; Politi, E.; Scott, E.M.; Thackeray, S.J.; & Tyler, A.N. Global lake thermal regions shift under climate change. *Nat Commun* **2020** 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15108-z>
6. Villa-Martínez, R.; Villagrán, C. Historia de la vegetación de bosques pantanosos de la costa de Chile central durante el Holoceno medio y tardío. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **1997**, 70, 391–401

7. Bertrand, S.; Charlet, F.; Charlier, B.; Renson, V.; Fagel, N. Climate variability of southern Chile since the Last Glacial Maximum: a continuous sedimentological record from Lago Puyehue (40°S). *J. Paleolimnol* **2008**, 39(2), 179–195. <https://doi.org/10.1007/s10933-007-9117-y>
8. Verleyen, E.; Hodgson, D. A.; Sabbe, K.; Cremer, H.; Emslie, S. D.; Gibson, J.; Hall, B.; Imura, S.; Marshall, G.J.; MMin, A.; Melles, M.; Newman, L.; Roberts, D.; Roberts, S.J.; Singh, S.M.; Sterken, M.; Tavernier, I.; Verkulich, S.; Van de Vyver, E.; Van Nieuwenhuze, W.; Wagner, B.; Vyverman, W. Post-glacial regional climate variability along the East Antarctic coastal margin — Evidence from shallow marine and coastal terrestrial records. *Earth-Sci. Rev.* **2011**, 104, 199–212. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2010.10.006>
- 9 Jenny, B.; Valero-Garcés, B.; Villa-Martínez, R.; Urrutia, R.; Geyh, M.; Veit, H. Early to Mid-Holocene Aridity in Central Chile and the Southern Westerlies: The Laguna Aculeo Record (34 ° S). *Quat. Res.* **2002**, 58, 160–170. <https://doi.org/10.1006/qres.2002.2370>
- 10 Maldonado, A.; Villagrán, C. Climate variability over the last 9900 cal yr BP from a swamp forest pollen record along the semiarid coast of Chile. *Quat. Res.* **2006**, 66, 246–258. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2006.04.003>
- 11 Fletcher, M.S.; & Moreno, P. I. Vegetation, climate and fire regime changes in the Andean region of southern Chile (38°S) covaried with centennial-scale climate anomalies in the tropical Pacific over the last 1500 years. *Quat. Sci. Rev.* **2012**, 46, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2012.04.016>
- 12 Frugone-Álvarez, M.; Latorre, C.; Giralt, S.; Polanco-Martínez, J.; Bernárdez, P.; Oliva-urcia, B.; Maldonado, A.; Carrevedo, M.L.; Moreno, A.; Delgado, A.; Prego, R.; Barreiro-Lostres, F.; Valero-Garcés, B. A 7000-year high-resolution lake sediment record from coastal central Chile (Lago Vichuquen, 34 °S): implications for past sea level and environmental variability. *J. Quat. Sci.* **2017**, 32(6), 830–844. <https://doi.org/10.1002/jqs.2936>
- 13 Cruces, F.; Urrutia, R.; Araneda, A.; Torres, L.; Cisternas, M.; Vyverman, W. Evolución trófica de Laguna Grande de San Pedro (VIII Región, Chile) durante el último siglo, mediante el análisis de registros sedimentarios. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **2001**, 74, 407–418. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2001000200015>
- 14 Cisternas-Vega, M.; Torrejón-Godoy, F. Cambios de Uso del Suelo, Actividades Agropecuarias e Intervención Ambiental Temprana en una

Localidad fronteriza de la Araucanía (S. XVI-XIX). *REV GEOGR NORTE GD* **2002**, 29, 83–94.

- 15Chirinos, L.; Rose, N.L.; Urrutia, R.; Muñoz, P.; Torrejón, F.; Torres, L.; Cruces, F.; Araneda, A.; Zaror, C. Environmental evidence of fossil fuel pollution in Laguna Chica de San Pedro lake sediments (Central Chile). *Environ Pollut.* **2006**, 141, 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.049>
- 16Fuentelba, C.; Henriquez, O. Rol de las poblaciones de *Diplodon chilensis* (Gray,1828) (Bivalvia: HYRIIDAE) en el estado trófico de la Laguna Chica de San Pedro (Chile). *Comun Soc Malacol Urug* **2009**, 9(92), 195–200. Available online: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=52414008003> (Accesed on 14 september 2019).
- 17Adán, L.; Rodrigo, M.; Navarro, X.; Campbell, R.; Quiroz, D.; Sánchez, M. Historia prehispánica de la región Centro-Sur de Chile: cazadores-recolectores holocénicos y comunidades alfareras (ca. 10.000 años a.C. a 1.550 años d.C.). In *Prehistoria en Chile: desde sus primeros habitantes hasta los Incas*; Falabella, F.; Uribe, M.; Sanhueza, L., Aldunate, C.; Hidalgo, J. Eds. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, 2016; pp. 401-441
- 18Torrejón, F.; Cisternas, M. Alteraciones del paisaje ecológico araucano por la asimilación mapuche de la agroganadería hispanomediterránea (siglos XVI y XVII). *Rev. Chil. Hist. Nat.* **2002**,75(4):729-736. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2002000400008>
- 19Torrejón, F.; Cisternas, M. Impacto ambiental temprano en la Araucanía deducido de crónicas españolas y estudios historiográficos. *Bosque* **2003**, 24(3), 45-55. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002003000300005>
- 20Parra, O. La eutroficación de la Laguna Grande de San Pedro, Concepción, Chile: un caso de estudio. *Ambient. Desarro.* **1989**, 1, 117–136.
- 21Cisternas, M.; Torres, L.; Urrutia, R.; Araneda, A.; Parra, O. Comparación Ambiental, mediante registros sedimentarios, entre condiciones prehispánicas y actuales. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **2000**, 73, 151–162. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000100014>
- 22Urrutia, R.; Sabbe, K.; Cruces, F.; Pozo, K.; Becerra, J.; Araneda, A.; Vyverman, W.; Parra, O. Paleolimnological studies of Laguna Chica of San Pedro (VIII Region): Diatoms, hydrocarbons and fatty acid records. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **2000**, 73, 717–728. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000400014>

- 23 Parra, O.; Valdovinos, C.; Urrutia, R.; Cisternas, M.; Habit, E.; Mardones, M. Caracterización y tendencias tróficas de cinco lagos costeros de Chile Central. *Limnetica* **2003**, 22(1–2), 51–83.
- 24 Almanza, V.; Parra, O.; Bicudo, C. E.; Gonzalez, M.; López, M.; Urrutia, R. Floraciones de fitoplancton y variación de la estructura comunitaria fitoplanctónica en tres lagos someros eutróficos de Chile Central. *Gayana Bot.* **2016**, 73(2), 191-205. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432016000200191>
- 25 Wanner, H.; Beer, J.; Butikofer, J.; Crowley, T.J.; Cubasch, U.; Goussé, H.; Grosjean, M.; Joos, F.; Kaplan, J.O.; Kutell, M.; Muller, S.A.; Prentice, C.; Solomina, O.; Stocker, T.F.; Tarasov, P.; Wagner, M.; Widmann, M. Mid- to Late Holocene climate change: an overview. *Quat. Sci. Rev.* **2008**, 27, 1791–1828. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.06.013>
- 26 Paerl, H.W.; Paul, V.J. Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Res.* **2012**, 46, 1349–1363. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.002>
- 27 Woolway, R.I.; Kraemer, B.M.; Lenters, J.D.; Merchant, C. J.; O'Reilly, C.M.; Sharma, S. Global lake responses to climate change. *Nat. Rev. Earth Environ.* **2020**. <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0067-5>
- 28 Jenny, B.; Valero-Garcés, B. L.; Urrutia, R.; Kelts, K.; Veit, H.; Appleby, P.G.; Geyh, M. Moisture changes and fluctuations of the Westerlies in Mediterranean Central Chile during the last 2000 years: The Laguna Aculeo record (33°50'S). *Quatern Int.* **2002**, 87, 3–18. [https://doi.org/10.1016/S1040-6182\(01\)00058-1](https://doi.org/10.1016/S1040-6182(01)00058-1)
- 29 Leavitt P.R.; Cummings, B.F.; Smol, J.P.; Reasoner, M.; Pienitz, R.; Hodgson, D.A. Climatic control of ultraviolet radiation effects on lakes. *Limnol. Oceanogr.* **2003**, 48(5), 2062-2069. <https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.5.2062>
- 30 Pal, S.; Gregory-Eaves, I.; Pick, F.R. Temporal trends in cyanobacteria revealed through DNA and pigment analyses of temperate lake sediment cores. *J. Paleolimnol* **2015**, 87–101. <https://doi.org/10.1007/s10933-015-9839-1>
- 31 Zullig, H. Untersuchungen über die Stratigraphie von Carotinoiden im geschichteten Sediment von 10 Schweizer Seen zur Erkundung früherer Phytoplankton-entfaltungen. *SCHWEIZ Z HYDROL* **1982**, 44:1–98. <https://doi.org/10.1007/BF02502191>

- 32Leavit, P.R.; Hodgson, A. Sedimentary pigments. In *Tracking environmental change using lake sediments: Volume 3: Terrestrial, algal and siliceous indicators*. Smol, J.P.; Birks, H.J.B.; Last W.M. Eds. Kluwer Academic Publishers: New York, USA, 2001; pp. 295–325. <https://doi.org/10.1007/0-306-47668-1>
- 33Birks, H.H.; Birks, H.J.B. Multi-proxy studies in palaeolimnology. *Veg Hist Archaeobot.* **2006**, 15, 235–251. <https://doi.org/10.1007/s00334-006-0066-6>
- 34Lami, A.; Musazzi, S.; Marchetto, A.; Buchaca, T.; Kernan, M.; Jeppesen, E.; Guilizzoni, P. Sedimentary pigments in 308 alpine lakes and their relation to environmental gradients. *Adv Limnol.* **2009**, 62:247–268. DOI: 10.1127/advlim/62/2009/247
- 35Bianchi, T.S.; Canuel, E.A. Chemical biomarkers in aquatic ecosystems. Princeton University Press, Princeton. 2011, 392. <https://doi.org/10.1515/9781400839100>.
- 36Gregory-Eaves, I.; Beisner, B. Palaeolimnological insights for biodiversity science: an emerging field. *Freshw. Biol.* **2011**, 56, 2653–2661.
- 37Schneider, T.; Rimer, D.; Butz, C.; Grosjean, M. A high-resolution pigment and productivity record from the varved Ponte Tresa basin (Lake Lugano, Switzerland) since 1919: insight from an approach that combines hyperspectral imaging and high-performance liquid chromatography. *J. Paleolimnol* **2018**, 60(3), 381–398. <https://doi.org/10.1007/s10933-018-0028-x>
- 38Sanchini, A.; Grosjean, M. Quantification of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and pheopigments *a* in lake sediments through deconvolution of bulk UV–VIS absorption spectra. *J. Paleolimnol.* **2020**, 64, 243–256. <https://doi.org/10.1007/s10933-020-00135-z>
- 39Sanchini, A.; Szidat, S.; Tylman, W.; Vogel, H.; Wacnik, A.; Grosjean, M.A. Holocene high-resolution record of aquatic productivity, seasonal anoxia and meromixis from varved sediments of Lake Łazduny, North-Eastern Poland: insight from a novel multi-proxy approach. *J. Quat. Sci.* **2020**, 1–11. DOI: 10.1002/jqs.3242
- 40Sanger, J.E. Fossil pigments in paleoecology and paleolimnology. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* **1988**, 62, 343–359. [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(88\)90061-2](https://doi.org/10.1016/0031-0182(88)90061-2)

- 41 Cuddington, K.; Leavitt, P.R. An individual-based model of pigment flux in lakes: implications for organic biogeochemistry and paleoecology. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1999**, 56, 1964–1977. DOI: [10.1139/f99-108](https://doi.org/10.1139/f99-108)
- 42 Kowalewska, G. Algal pigments in Baltic sediments as markers of ecosystem and climate changes. *J. Clim. Res.* **2001**, 18, 89-96. DOI: [10.3354/cr018089](https://doi.org/10.3354/cr018089)
- 43 Reuss, N.; Leavitt, P.R.; Hall, R.I.; Bigler, C.; Hammarlund, D. Development and application of sedimentary pigments for assessing effects of climatic and environmental changes on subarctic lakes in northern Sweden. *J. Paleolimnol* **2010**, 43, 149–169. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9323-x>
- 44 Amann, B.; Lobsiger, S.; Fischer, F.; Tylmann, W.; Bonk, A.; Filipiak, J.; Grosjean, M. Spring temperature variability and eutrophication history inferred from sedimentary pigments in the varved sediments of Lake Żabińskie, north-eastern Poland, AD 1907–2008. *Glob. Planet. Change*, **2014** 123, 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2014.10.008>
- 45 Tse, T.J.; Doig, L.E.; Leavitt, P.R.; Quiñones-Rivera, Z.J.; Codling, G.; Lucas, B.T.; Liber, k.; Giesy, J.P.; Wheeler, H.; Jones, P.D. Long-term spatial trends in sedimentary algal pigments in a narrow river-valley reservoir, Lake Diefenbaker, Canada. *J Great Lakes Res* **2015**. 41:56–66. <http://dx.doi.org/10.1016>
- 46 Gu, B.; Schelske, C.L.; Brenner, M. Relationship between sediment and plankton isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and primary productivity in Florida lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1996**, 53(4), 875–883. <https://doi.org/10.1139/f95-248>
- 47 Verleyen, E.; Hodgson, D.A.; Leavitt, P.R. Quantifying habitat-specific diatom production: A critical assessment using morphological and biogeochemical markers in Antarctic marine and lake sediments. *Limnol. Oceanogr.* **2004**, 49(5):1528-1539. <https://doi.org/10.2307/3597423>
- 48 Deshpande, B.N.; Tremblay, R.; Pienitz, R.; Vincent, W.F. Sedimentary pigments as indicators of cyanobacterial dynamics in a hypereutrophic lake. *J. Paleolimnol* **2014**, 52(3), 171–184. <https://doi.org/10.1007/s10933-014-9785-3>
- 49 Talbot, M.R.; Johannessen, T. A high resolution palaeoclimatic record for the last 27,500 years in tropical West Africa from the carbon and nitrogen isotopic composition of lacustrine organic matter. *Earth Planet. Sci. Lett* **1992**, 110: 23–37. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(92\)90036-U](https://doi.org/10.1016/0012-821X(92)90036-U)

- 50 Hassan, K.M.; Swinehart, J.B.; Spalding, R.F. Evidence for Holocene environmental change from C/N ratios, and ^{13}C and ^{15}N values in Swan Lake sediments, western Sand Hills, Nebraska. *J. Paleolimnol* **1997**, 18, 121–130. <https://doi.org/10.1023/A:1007993329040>
- 51 Talbot, M.R.; Lærdal, T. The Late Pleistocene-Holocene palaeolimnology of Lake Victoria, East Africa, based upon elemental and isotopic analyses of sedimentary organic matter. *J. Paleolimnol* **2000**, 23, 141–164. <https://doi.org/10.1023/A:1008029400463>
- 52 Routh, J.; Choudhary, P.; Meyers, P. A.; Kumar, B. A sediment record of recent nutrient loading and trophic state change in Lake Norrviken, Sweden. *J. Paleolimnol* 2008, 42(3): 325–341. <https://doi.org/10.2307/3597423doi:10.1007/s10933-008-9279-2>
- 53 Cisternas, M.; Araneda, A.; Retamal, O.; Urrutia, R. Sedimentos como indicadores de eventos erosivos en una pequeña cuenca lacustre de Chile Central. *Espacio y Desarrollo* **1997**, 9, 103–116.
- 54 Fagel, N.; Bertrand, S.; Mattielli, N.; Gilson, D.; Chirinos, L.; Lepoint, G.; Urrutia, R. Geochemical evidence (C, N and Pb isotopes) of recent anthropogenic impact in south-central Chile from two environmentally distinct lake sediment records. *J. Quat. Sci.* **2010**, 25(7), 1100–1112. <https://doi.org/10.1002/jqs>
- 55 Martínez, C., Rojas, C., Rojas, O., Quezada, J., López, P., Ruiz, V. Crecimiento urbano sobre geoformas costeras de la llanura de San Pedro, área Metropolitana de Concepción. In: *En las costas del Neoliberalismo: naturaleza, urbanización y producción inmobiliaria: experiencias en Chile y Argentina*; Hidalgo R., Santana, D., Voltaire, A. Arenas, F., Salazar, A., Valdebenito, C., Alvarez, L., Eds. 2016. *Geolibros No. 23*. Santiago, Chile. 287-312.
- 56 Dobry, R.; Poblete, M. Densidades máximas y mínimas de las arenas Bio-Bio. *Revista IDIEM*, **1966**, 5(3), 151-159. Available: <https://revistaidiem.uchile.cl/index.php/RIDIEM/article/view/38465>
- 57 Isla, F.I., Quezada Flory, J., Martínez, C., Fernández, A., Jaque, E. The evolution of the Bío Bío delta and the coastal plains of the Arauco Gulf, Bío Bío Region: the Holocene sea-level curve of Chile. *J. Coast. Res.* **2012**, 28(1), 102-111.
- 58 Mortlock, R.A.; Froelich, P.N. Instruments and methods a simple method for the rapid determination of biogenic opal in pelagic marine sediments. *Deep-*

- Sea Res. **1989**, 36(9), 1415–1426. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(89\)90092-7](https://doi.org/10.1016/0198-0149(89)90092-7)
- 59Blott, S.; Pye, K. Gradistat: a grain size distribution and statistics package for analysis of unconsolidated sediments. *Earth Surf. Process. Landf.* **2001**, 26, 1237–1248. <https://doi.org/10.1002/esp.261>
- 60Troncoso, J.M.; Vergara, C.; Alvarez, D.; Diaz, G.; Fierro, P.; Araneda, A.; Torrejón, F.; Rondanelli, M.; Fagel, N. Urrutia, R. A new multi-proxy record of environmental change over the last 1000 years on Chiloé Island: Lake Pastahué, south-central Chile (42°S). *Holocene* **2018**, 29 (3): 1-11. <https://doi.org/10.1177/0959683618816492>
- 61Bronk Ramsey, C. OxCal program version 3.10; manual. <https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal3/oxcal.htm>. Oxford Radiocarbon Accelerator Unit: Oxford, UK, **2005**.
- 62Hogg, A.G.; Hua, Q.; Blackwell, P. G.; Niu, M.; Buck, C.E.; Guilderson, T.P.; Heaton, T.J.; Palmer, J.G.; Reimer, P.J.; Reimer, R.W.; Turney, C.S.M.; Zimmerman, S.R.H. SHCAL 13 Southern hemisphere calibration 0-50,000 years cal. *Radiocarbon* **2013**, 55, 4, 1889-1903. https://doi.org/10.2458/azu_js_rc.55.16783
- 63Blaauw, M. Methods and code for 'classical' age-modelling of radiocarbon sequences. *Quat. Geochronol.* **2010**, 5, 5, 512-518. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2010.01.002>
- 64R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing, version 2.6.2. R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria 2016. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 14 september 2018)
- 65Freudenthal, T.; Wagner, T.; Wenzhofer, F.; Zabel, M.; Wefer, G. Early diagenesis of organic matter from sediments of the eastern subtropical Atlantic: Evidence from stable nitrogen and carbon isotopes. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2001**, 65, 1795–1808. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00554-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00554-3)
- 66Nyssen, F.; Brey, T.; Lepoint, G.; Bouquegneau, J.M.; De Broyer, C.; Dauby, P. A stable isotope approach to the eastern Weddell Sea trophic web: focus on benthic amphipods. *Polar Biol.* **2002**, 25, 280–287. <https://doi.org/10.1007/s00300-001-0340-0>
- 67Fagel, N.; Bertrand, S.; Mattielli, N.; Gilson, D.; Chirinos, L.; Lepoint, G.; Urrutia, R. Geochemical evidence (C, N and Pb isotopes) of recent

- anthropogenic impact in south-central Chile from two environmentally distinct lake sediment records. *J. Quat. Sci.* **2010**, 25(7), 1100–1112. <https://doi.org/10.1002/jqs>
- 68 Vaslet, A.; Bouchon-Navaro, Y.; Harmelin-Vivien, M.; Lepoint, G.; Louis, M.; Bouchon, C. Foraging habits of reef fishes associated with mangroves and seagrass beds in a Caribbean lagoon: a stable isotope approach. *Cienc. Mar.* **2015**, 41(3), 217–232. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i3.2494>
- 69 Van Heukelem, L.; Thomas, C.S. Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *J. Chromatogr. A* **2001**, 910, 31–49. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00603-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00603-4)
- 70 Meyer, I.; Daele, M.; Van Fiers, G.; Verleyen, E.; Batist, M.De; Verschuren, D. Sediment reflectance spectroscopy as a paleo-hydrological proxy in East Africa. *Limnol Oceanogr. Methods* **2018**, 16, 92–105. <https://doi.org/10.1002/lom3.10230>
- 71 Schneider, T.; Rimer, D.; Butz, C.; Grosjean, M. A high-resolution pigment and productivity record from the varved Ponte Tresa basin (Lake Lugano, Switzerland) since 1919: insight from an approach that combines hyperspectral imaging and high-performance liquid chromatography. *J. Paleolimnol* **2018**, 60(3), 381–398. <https://doi.org/10.1007/s10933-018-0028-x>
- 72 Reuss, N. Sediment pigments as biomarkers of environmental change. Ph.D. thesis. National Environmental Research Institute, Roskilde, University of Copenhagen, Denmark. 2005.
- 73 Verleyen, E.; Hodgson, D.A.; Sabbe, K.; Vyverman, W. Late Holocene changes in ultraviolet radiation penetration recorded in an East Antarctic lake. *J. Paleolimnol* **2005**, 34, 191–202. <https://doi.org/10.1007/s10933-005-4402-0>
- 74 Legendre P; Gallagher E.D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* **2001**, 129:271-280. <https://doi.org/10.1007/s004420100716>
- 75 Stupar, Y.V.; Schäfer, J.; García M.G.; Schmidt, S.; Piovano, E.; Blanc, G.; Huneau, F.; Le Coustumer P. Historical mercury trends recorded in sediments from the Laguna del Plata, Córdoba, Argentina. *Chem. Erde*, **2014**: 74, 353-363. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2013.11.002>

- 76Aronson, J.; Del Pozo, A.; Ovalle, C.; Avendaño, J.; Lavin, A.; Etienne, M. Land Use Changes and Conflicts in Central Chile. In *Landscape Disturbance and Biodiversity in Mediterranean-Type Ecosystems*; Rundel, P.W.; Montenegro, R.G.; Jaksic, F.M. Eds.; Ecological Studies, Berlin, 1998, pp. 155–168. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-03543-6>
- 77Urrutia, R.; Sabbe, K.; Cruces, F.; Pozo, K.; Becerra, J.; Araneda, A.; Vyverman, W.; Parra, O. Paleolimnological studies of Laguna Chica of San Pedro (VIII Region): Diatoms, hydrocarbons and fatty acid records. *Rev. Chil. His. Nat.* **2000**, 73, 717–728. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000400014>
- 78Cisternas, M.; Araneda, A.; Martínez, P.; Pérez, S. Effects of historical land use on sediment yield from a lacustrine watershed in central Chile. *Earth Surf. Process. Landf.* **2001**, 26, 63–76. [https://doi.org/10.1002/1096-9837\(200101\)26:1<63::AID-ESP157>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1096-9837(200101)26:1<63::AID-ESP157>3.0.CO;2-J)



CAPITULO II

Environmental and watershed perturbations based on scanning reflectance spectroscopy and sedimentary pigments in two coastal lakes

Isis-Yelena Montes^{1,2*}, Andy Banegas-Medina^{1,2}, Denisse Alvarez^{1,3}, Fernando Torrejón¹ and Roberto Urrutia¹

- ¹ Department of Aquatic Systems, Faculty of Environmental Science, Centre of Environmental Science EULA-Chile and CHRIAM Water Research Centre, Universidad de Concepción, P.O. box 160-C, Concepción, Chile.
- ² Department of Sciences, Laboratory of Biology, Danlí Technological Campus, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Panamerican Highway km 95, Danlí, Honduras.
- ³ Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás. Concepción, Chile.

*Corresponding author: Isis-Yelena Montes

Department of Aquatic Systems, Faculty of Environmental Science, Center of Environmental Science EULA-Chile, Universidad de Concepción, P.O. box 160-C, Concepción, Chile.

Email: yelenamontes@gmail.com

Phone: +504 9963 2412

Paper type: Original research (submitted)

Manuscript Information Overview

Manuscript ID	quaternary-1571752
Status	Pending review
Article type	Article
Title	Environment and watershed perturbations based on scanning reflectance spectroscopy and sedimentary pigments in two coastal lakes
Journal	<i>Quaternary</i>
Special Issue	Quaternary Environmental Change and Fluvial History
Abstract	Environmental changes generated during the last centuries provoked disturbances on the natural landscape in Laguna Grande and Chica de San Pedro. Both ecosystems and their biodiversity are threatened by global changes, infrastructure, population growth and changes in land use, mainly in the last decades. Paleoenvironmental studies are far-reaching to estimate this influence of human-induced global warming, and the palaeoecological data are essential in interpreting these biodiversity changes. Here, we explore the trophic event histories of two Chilean lakes in the last centuries. Our goal has been to assess the environmental conditions through spectral properties (R570/630, R660/670, RABD660-670) and other indicators of primary production (CD/TC ratio, pheopigments-a/chlorophyll-a, T carotenoid/Tpigments), stable isotopes and fossil pigments. Low primary production was registered around ~1000 AD for LCSP and LGSP, linked La Niña-like conditions in a period comprised around ~650 and ~950 AD characterised by cold temperatures and moisture. Disturbances around ~1500 AD for LCSP and LGSP are possibly the earliest human interventions for both lakes associated with the Spanish arrival. Noticeable effects around ~1900 AD in LGSP are likely associated with the mining activities of Lota where the devastation of the native forest generated erosive processes and carry-over of allochthonous organic matter enriching the aquatic system. The significant human disturbances in these ecosystems were identified in LCSP since ~1500 AD and 1~940 AD for LGSP. The cyanobacteria community showed a significant contribution in the last 150 years for LGSP, while cryptophytes and diatoms presence represented the major contribution for LCSP. Future research should therefore concentrate on investigating primary production proxies to estimate the potential

Abstract

Environmental changes generated during the last centuries provoked disturbances in the natural landscape in Laguna Grande and Chica de San Pedro. Both ecosystems and their biodiversity are threatened by global changes, infrastructure, population growth, and changes in land use, mainly in the last decades. Paleoenvironmental studies are far-reaching to estimate the influence of human-induced global warming, and the palaeoecological data are essential in interpreting these biodiversity changes. Here, we explore the trophic event histories of two Chilean lakes in the last centuries. Our goal has been to assess the environmental conditions through spectral properties ($R_{570/630}$, $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$) and other indicators of primary production (CD/TC ratio, pheopigments-a/chlorophyll-a, T carotenoid/Tpigments), stable isotopes and fossil pigments. Low primary production was recorded around ~1000 AD for LCSP and LGSP, linked to La Niña-like conditions in a period comprised around ~650 and ~950 AD characterised by cold temperatures and moisture. Disturbances around ~1500 AD for LCSP and LGSP are possibly the earliest human interventions for both lakes associated with the Spanish arrival. Noticeable effects around ~1900 AD in LGSP are likely associated with the mining activities of Lota, where the devastation of the native forest generated erosive processes and carry-over of allochthonous organic matter enriching the aquatic system. The significant human disturbances in these ecosystems were identified in LCSP since ~1500 AD and ~1940 AD for LGSP. The cyanobacteria community showed a significant contribution in the last 150 years for LGSP, while cryptophytes and diatoms presence represented the major contribution to LCSP. Future research should therefore concentrate on investigating primary production proxies to estimate the potential of these techniques.



Keywords: *sediments, anthropogenic disturbances, environmental changes, algae community, trophic conditions.*

Introduction

The land-use changes generated during the mid-sixteenth century by the Spanish colonisation provoked disturbances on the natural landscape in Laguna Grande and Chica de San Pedro (Cruces et al. 2001; Cisternas & Torrejón, 2002; Torrejón & Cisternas, 2002; Torrejón & Cisterna, 2003; Chirinos et al. 2006; Fuentealba, 2009; Adán et al. 2016). Since then, these watersheds have been subjected to increasing human impacts, including intensive periods of land use, clear-cutting of native forests, and the replacement by exotic plantation forestry, wheat growing, urbanization, and industrialization processes. These disturbances are causing changes in the trophic status and water quality mainly for the last 500 years (Cruces et al. 2001; Cisternas & Torrejón, 2002; Chirinos et al. 2006; Fuentealba, 2009).

The growing demand of the population in these systems implies a higher food production, which leads to changes in the agricultural practices and management, higher pressure on these ecosystems due to higher water consumption, higher energy use, pollution, and scarcity (Jeppesen et al. 2014). In this way, lakes are critical natural resources sensitive to changes in climate and human activities (Woolway et al. 2020). In fact, these freshwater ecosystems and their biodiversity are earnestly threatened by global changes, development and population growth threatened by global changes, development, population growth, and land-use changes, causing increases in nutrient inputs and intensification of eutrophication in recent decades (Jeppesen et al. 2014; Malone & Newton, 2020).

In recent years, it has been distinguished that the frequency and intensity of algae blooms are associated with anthropogenic disturbances, mostly nutrient over-enrichment and climate change scenarios (Carey et al. 2012; Malone & Newton, 2020). These algae groups are often toxic and disrupt food webs, leading to hypoxia due to high anthropogenic nutrient inputs toward the watersheds (Paerl et al. 2016). On this wise, cyanobacterial blooms represent significant challenges for managing aquatic systems due to adverse impacts on human health, economic and ecological consequences (Pearl & Scott, 2010; Carey et al. 2012).

It has been identified that changes in rainfall patterns or extreme rainfall events followed by extensive summer droughts with the nutrient inputs from watersheds provoke strengthened and prolonged stratification what favouring the development and persistence of these blooms (Paerl et al. 2016). Therefore, global warming is expected to have a severe effect on the strength (stronger) and duration (longer) of lakes stratification (Carey et al. 2012; Magee & Wu, 2017; Maberly et al. 2020). Similarly, climate-related warming of lakes has been detected, showing changes in species composition, organism abundance and productivity (Bates et al. 2008). In this way, global warming may turn out sizable environmental consequences for aquatic ecosystems (Anderson, 2000; Hausmann & Pienitz, 2007). Consequently, climate change brings out the risks to the rendition of water management objectives and the effectiveness of these measures (De Senerpont Domis et al. 2007; Arnell et al. 2015; Guiry, 2019). Paleolimnological and paleoenvironmental studies are far-reaching to estimate this influence of human-induced global warming and the palaeoecological data. It has been important in interpreting these biodiversity changes (Gregory-Eaves and Beisner, 2011; Matsumoto et al. 2014).

This study aims to explore the trophic condition events of two coastal lakes of Chile in the last centuries using paleolimnological techniques. We based our approach on the baseline assessment of the trophic state conditions. Reconstruction of primary production during the late Holocene used several proxies, including sedimentologic and isotopic composition of carbon and nitrogen, biogenic silica and fossil pigments. Here we explore the utility of those proxies by comparing variables and the shifts recorded in sediment cores.

Study area

The area is located within the lacustrine system of San Pedro de la Paz, Biobío region, in south-central Chile, on the northwestern slope of the mountain range of Nahuelbuta, close to the Pacific Ocean and to the south of Biobío River mouth (Cisternas et al. 1997; Montes et al. 2021) (Fig. 1). The two lakes are comprised by the Laguna Grande (36°51' S; 73°06 O) and Laguna Chica (36°51' S; 73°05 O), onwards LGSP and LCSP respectively. This area is part of an ancient coastal plain constituted during the Quaternary period (Cisternas et al. 1997; Fagel et al. 2010). Both lakes were developed within the valley of ancient rivers that once drained to the Pacific Ocean. During the late Pleistocene/early Holocene, lakes were dammed by sedimentation contributing of Nahuelbuta mountain range. In addition, basaltic sands originated from the Antuco Volcano (lake Laja) and were transported from the headwater to the mouth of the Biobio river, contributing to the Biobio river delta formation and the Coronel coastal plain. In this way, fluvial sediments were deposited at the north of LGSP and LCSP as part of their geomorphological formation (Fagel et al. 2010; Martinez et al. 2016; Dobry et al. 1966).

The LGSP is a shallow lake with 12.5 km² of drainage basin, 1.55 km² of surface area, 13.5 m of maximum depth with 5.7% of native forest and 52.4% of forest plantations in the watershed. In contrast, the LCSP is a small lake with 4.5 km² of the drainage basin, 0.87 km² of surface area with 18 m of maximum depth, with 27% of native forest and 48.9 % of forest plantations (Cisternas et al. 1997; Cisternas et al. 2000; Cruces et al. 2001; Montes et al. 2021). According to Fletcher and Moreno (2012), these ecosystems are influenced by the Subtropical South Pacific Ocean high-pressure system and the extratropical southern westerly winds (SWW), allowing El Niño-Southern Oscillation (ENSO) and the Southern Annular Modes (SAM).

During the last years, the environmental degradation in these watersheds has been carried about by anthropogenic activities, affecting the chemical and biological conditions of water and trophic state (Parra, 1989, Cisternas et al. 2000, Urrutia et al. 2000; Cruces et al. 2001, Parra et al. 2003; Fuentealba & Henríquez, 2009). Nevertheless, in recent decades, the increase in primary productivity and trend to more negative values for $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ have been detected, indicating inputs of organic matter toward the watershed (Montes et al. 2021). Furthermore, Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Desmidiaceae and Cyanophyceae have been the main communities of phytoplankton that have dominated both lakes (Parra 1989; Cisternas et al. 2000; Parra et al. 2003; Almanza et al. 2016).

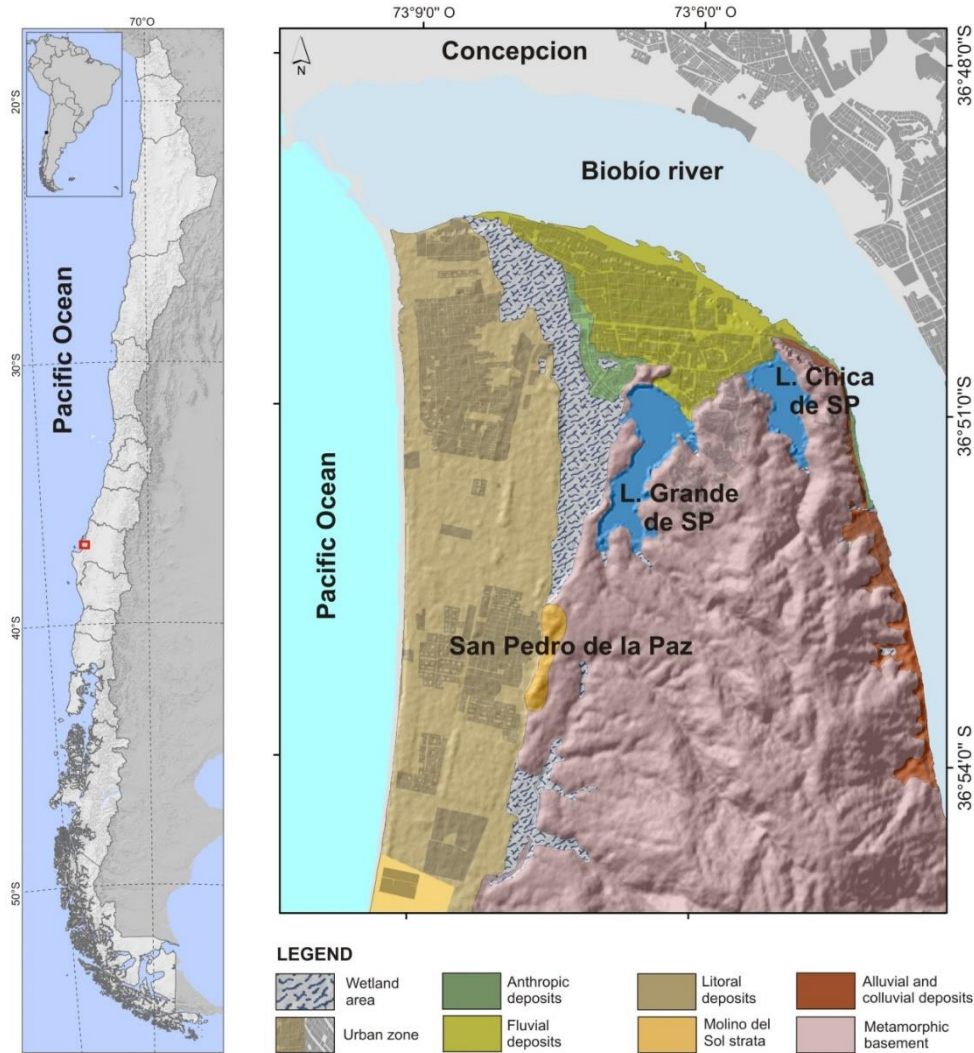


Figure 1. Location of the Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro in central-south of Chile.

Material and methods

The visible-spectrum scanning reflectance spectroscopy (VIS-RS) was scanned at 2 mm intervals using a Gretag-Spectrolino (GretagMcBeth, Switzerland). The total chlorin is considered a relative measure of chlorophyll-a and its derivatives (Rein & Sirocko, 2002; Das, 2007; Michelutti et al., 2010) and was determined from the absorption between 660 and 670 nm compared to the baseline absorption slope for this range, estimated from the slope of the entire spectrum from 380 to 730 nm (Rein & Sirocko, 2002). The degree of diagenesis is considered as a relative measure of the amount of chlorophyll-related degradation products and was calculated using the ratio between reflectance at 660 and 670 nm ($R_{660/670}$) (Michelutti et al. 2010).

Furthermore, the lithogenic content as an estimate of terrigenous mineroclastics, was calculated using a simple ratio between reflectance at 570 and 630 nm (R570/630) (Rein & Sirocko, 2002). The CD/TC (Chlorophyll Derivates/Total Carotenoids) ratio was used as an indicator of lake trophic state and preservation conditions (Swain, 1985; Schneider et al. 2018; Zhang et al. 2019; Zander et al. 2020). Through the pheopigment -a (sum of phaeophorbide-a and phaeophytin-a) to Chl-a, was evaluate the degree of pigment preservation (Reuss et al. 2005; Zhang et al. 2019). The Total Carotenoid (TCaro)/Total identified pigments (TPigment) ratio was used to interpret the conservation of labile carotenoids in both lakes (Reuss et al. 2005). The contribution percentage was obtained for both systems to quantify the contribution of the sum of the main carotenoids from algae (Romero-Viana et al. 2010; Jimenez et al. 2015).

Sediment analysis and age model

Sediment subsamples were obtained from sediment cores of LGSP (13.5 m) and LCSP (18 m), sectioned into 1 cm intervals. The age model for both sediment cores was logged in Clam (RStudio) using 210Pb, 137Cs and 14C data (Montes et al (2021)). All subsamples were freeze-dried and homogenized using a mortar and pestle to fossil pigments analysis.

The stable isotope samples were oven-dried and homogenised using a mortar and pestle prior to the analysis. Besides, this analysis was carried out using an IsoPrime100, isotopic ratio mass spectrometry (Isoprime, UK) coupled in a continuous flow to a Vario Micro cube elemental analyser (Elementar, Germany). The isotopic values are expressed as δ values in ‰. Accuracy was obtained on 7, and 10 replicates for LGSP and LCSP, respectively, performed on samples and standards, i.e. standard atropine value (0.5 ‰ C and 0.4 ‰ N), IAEA-CH6 sucrose ($\delta^{13}\text{C} = -10.4 \pm 0.2\text{‰}$) and IAEA-N1 ($\delta^{15}\text{N} = +0.4 \pm 0.2\text{‰}$). The samples were acidified with HCl to remove inorganic carbonates to avoid any modification of the nitrogen isotopic signature (Freudenthal et al. 2001; Van Heukelem et al. 2001; Nyssen et al. 2002; Vaslet et al. 2015). These analyses were performed at the Laboratory of Oceanology, Institute of Chemistry, Université de Liege, Belgium.

Extractions of thirty samples of freeze-dried sediments were performed from sediments in both lakes. It added a solution of 90% acetone to the samples, and sonication was used for the extraction (1 min per sample and let the extract overnight by 4°C in dark conditions). The analyses were carried out using the Agilent 1100 HPLC (high-performance liquid chromatography), pump, auto-sampler, DAD-diode-array detector and Agilent Eclipse XDB-C8 column (Van Heukelem & Thomas, 2001). The fossil pigments were identified and quantified based on each pigment retention time and specified spectrum. They were calibrated using standard pigments provided by DHI Denmark.

Calculating individual pigments concentrations used the response factors of standard pigments, expressed as dry-mass specific concentrations (μg pigment per mg dry sediment) (Leavitt & Hodgson 2001; Reuss 2005; Verleyen et al. 2005; Meyer et al. 2018). The pigments were circumscribed to their respective taxonomic groups. Chlorophylls were identified mainly chlorophyll-a and chlorophyll-b (chl-b), and their degradation products phaeophytin-a and phaeophorbide-a. The carotenoids as zeaxanthin, canthaxanthin and echinenone were used as indicators of cyanobacteria (Cyanophyta). Other pigments such as lutein, alloxanthin and diatoxanthin were also identified (Legendre & Gallagher 2001; Van Heukelem & Thomas 2001; Reuss 2005; Verleyen et al. 2005; Meyer et al. 2017; Sanchini et al. 2020). These analyses were performed in the Laboratory of Protistology and Aquatic Ecology, Ghent University, Belgium.

Statistical analysis

Hierarchical constrained clustering was applied to delimit different biostratigraphic zones within the sediment core of both lakes. The VIS-RS results in lithogenic content ($R_{570/630}$), pigment diagenesis ($R_{660/670}$), and total chlorin ($RABD_{660-670}$) were treated as proxies of phytoplankton abundance, which were transformed through the Hellinger transformation and the Euclidean distance measure (Legendre & Gallagher, 2001) and using the Constrained Incremental Sums of Squares Cluster Analysis (CONISS) (Grimm, 1987). This method constrains clusters identifying periods of major ecological transition. The significance of the zones was assessed through the broken-stick model test in the Rioja package for R software (Juggins, 2017).

Linear regressions were performed to assess the relationship between RABD and total chlorophylls, biogenic silica, and $d^{13}\text{C}$. It was used to determine statistically significant associations between the proxies that help to understand the primary production in both lakes. Two stopping rules were considered critical p -value ($\alpha = 0.05$) and the value of reduced model adjusted R^2 (Blanchet et al. 2008).

Results

According to the lithological characteristics, our results showed three different sedimentary zones for LCSP and three for LGSP were identified based on the chlorophyll derivates, total carotenoids, chlorophyll derivates/total carotenoids ratio, phropigments-a/Chlorophyll-a, total carotenoids/total pigments, the percentage of contribution, the lithogenic contents, pigment diagenesis, total chlorin, biogenic silica, C/N ratio, $d^{13}\text{C}$, $d^{15}\text{N}$ and total nitrogen (Figure 3, 4 5. 6).

the lithology, grain-size (D50) and MS variation (Fig, 3). In addition, other proxies such as BSi, C/N ratios, stable isotopes of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen

($\delta^{15}\text{N}$), OM, total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) displayed noteworthy changes in every sedimentary unit of both sediment cores (Fig.3).

The VIS-RS and geochemical data for LGSP and LCSP are summarised in Fig. 3 and 4. The results for $R_{570/630}$ in LCSP (Zone 1, Fig. 3) revealed relatively stable values with low values (0.9) between 38 to 10 cm (Zone 2 to 1), with an exception at 25 cm, a slight decrease at 2 cm and reached the highest values to the upper layer of the sediment core. $R_{660/670}$ profile showed noticeable peaks at 39, 50 and 61 cm (Zone 3). $RABD_{660-670}$ values ranged around 1.04 with variations around 17, 36, 39 and 61 cm, with a drop since 62 cm toward the bottom of the sediment core (Zone 3). Bsi profile displayed several fluctuations throughout the sediment core, increasing from the bottom of core till 68 cm, followed by a pronounced drop between 58 and 66 cm (Zone 3), with peaks at 18, 37, 46 and 68 cm. C/N ratio and $\delta^{13}\text{C}$ reported variations through both profiles, with a change at 34 cm and a notable shift between 58 and 66 cm for C/N ratio, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and TN values.



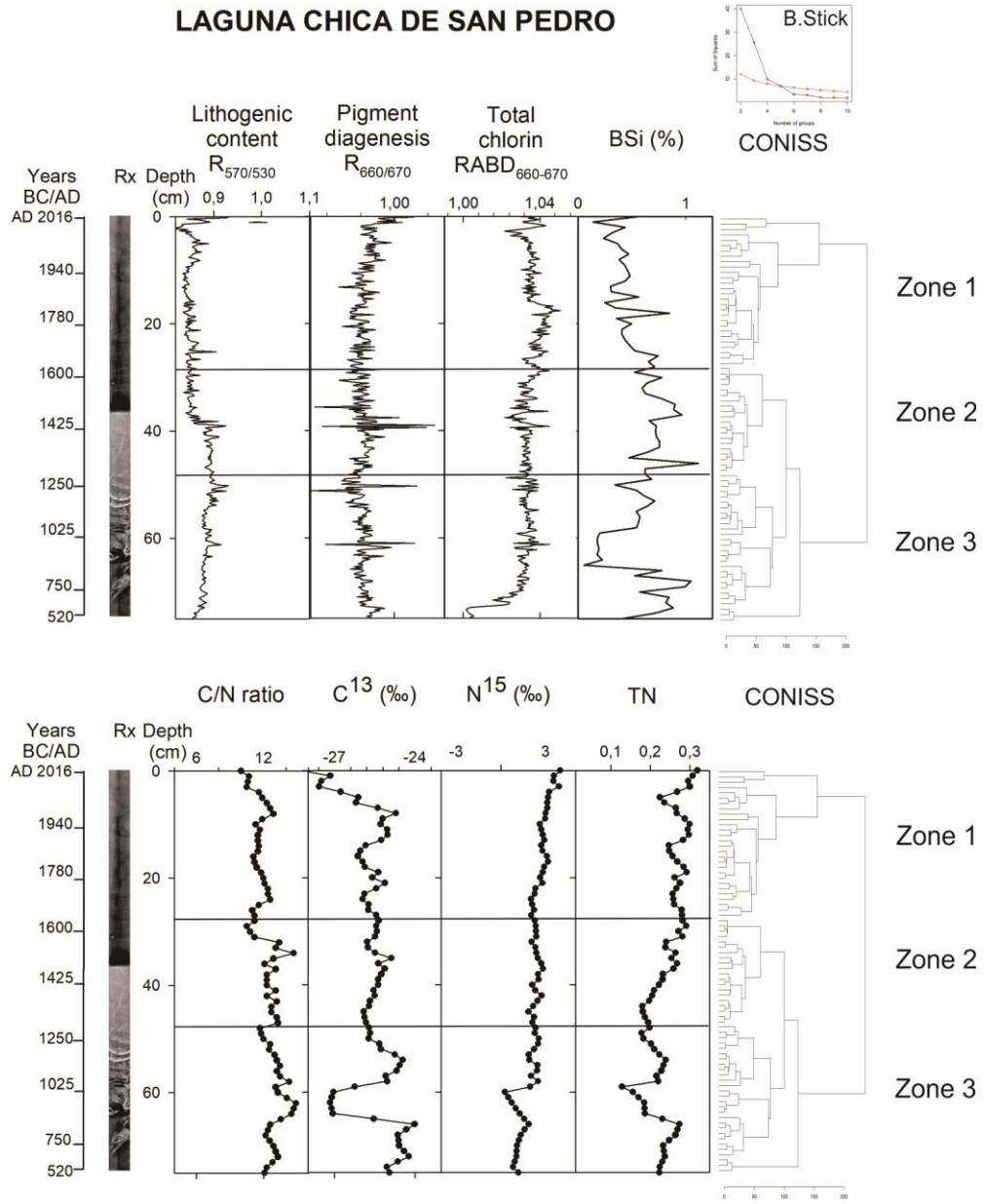


Figure 3. Stratigraphy diagram of Laguna Chica de San Pedro. Lithogenic content ($R_{570/630}$), degree of diagenesis ($R_{660/670}$) and total chlorin ($RABD_{660-670}$) with BSi%, stable isotopes (C/N ratio, $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$) and TN.

LAGUNA GRANDE DE SAN PEDRO

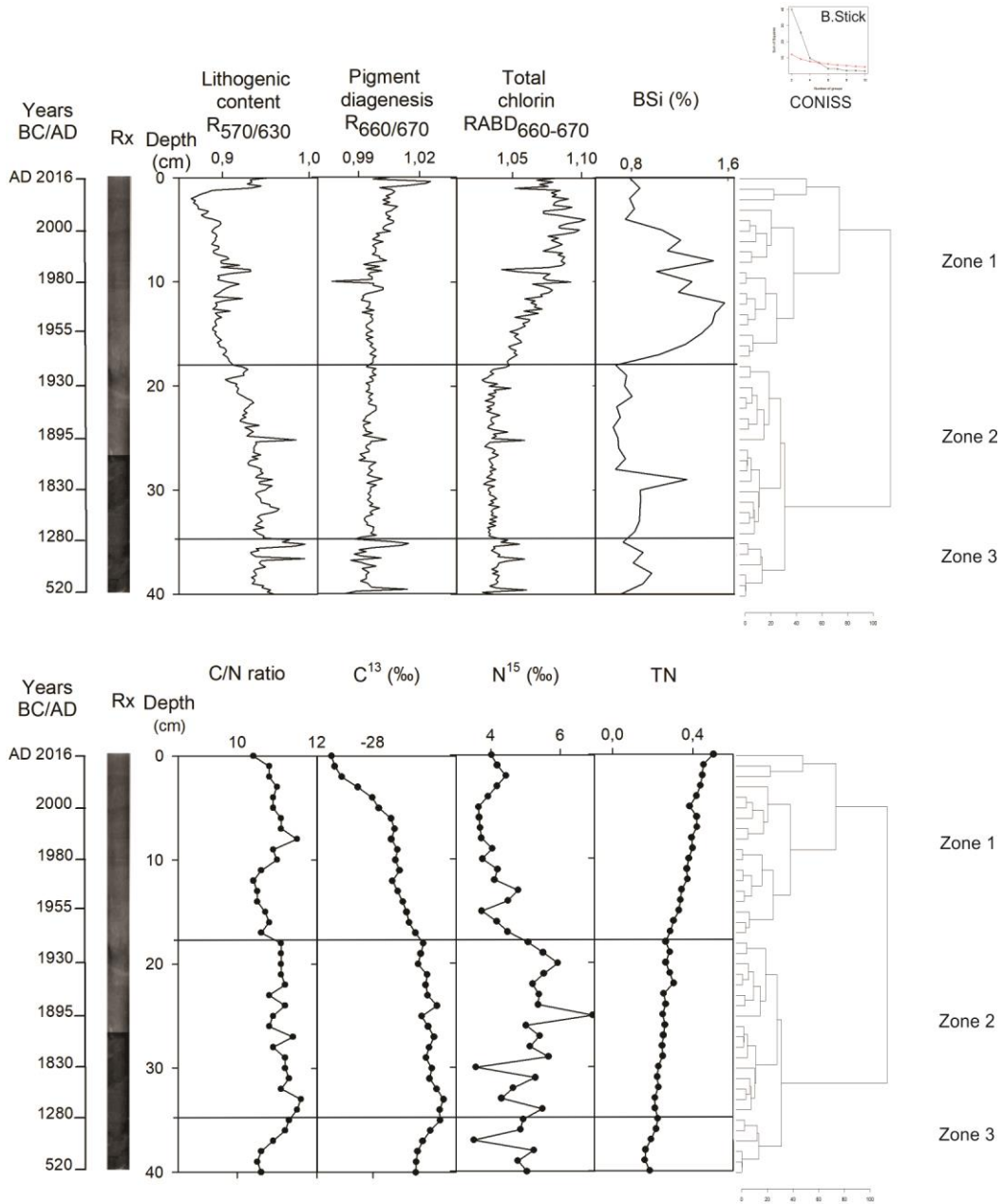


Figure 4. Stratigraphy diagram of Laguna Grande de San Pedro. Lithogenic content (R_{570/630}), degree of diagenesis (R_{660/670}) and total chlorin (RABD₆₆₀₋₆₇₀) with BSi%, stable isotopes (C/N ratio, C¹³, N¹⁵) and TN.

Regarding the CD/TC ratio, LCSP was characterised by a low ratio from ~49 to 80 cm (Zone 3, Fig. 5), followed by a sudden increase from 49 to 36 cm, with peaks at 1, 10 and 25 cm. CD and TC profiles showed low values from the bottom of sediment core, with a trend to increase at the upper part of sediment layer from 23 cm. Recognised changes for CD/TC ratio, pheopigment-a/ chlorophyll-a profile and Tcarotenoid/Tpigment from 49 cm onwards with shifts at 9, 16, 25 and 36 cm (Zone 1 to 2). LGSP revealed an increase toward the upper layer of sediment for CD and TC profiles (Fig. 6). At the same time, the CD/TC ratio and pheopigment-a/chlorophyll-a showed an increase from 36 to 20 cm, declining between 20 to 9 cm, with an increase at 6 cm to the uppermost sediment core for CD/TC ratio. Tcartonoid/Tpigment displayed values inversely to the CD/TC ratio.

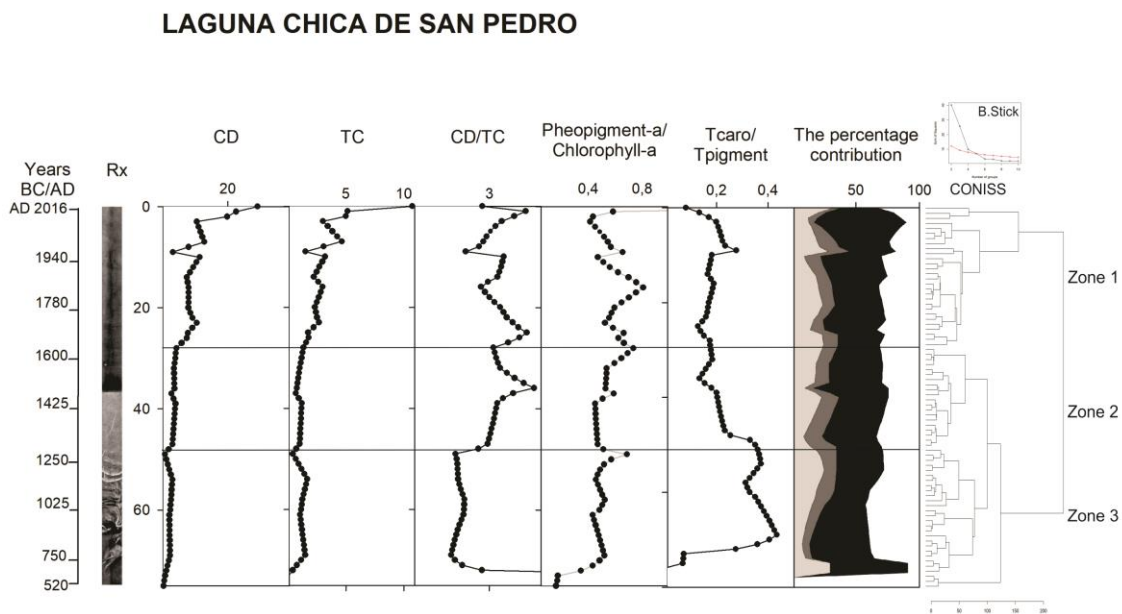


Figure 5. Indicators of trophic conditions and pigment degradation in Laguna Chica de San Pedro. CD, TC, CD/TC ratio, pheopigment-a/chlorophyll-a, Total carotenoids/Total pigments and the percentage of contribution of the algal carotenoids: cyanobacteria (light gray), lutein (dark gray), alloxanthin (black) and diatoxanthin (white).

LAGUNA GRANDE DE SAN PEDRO

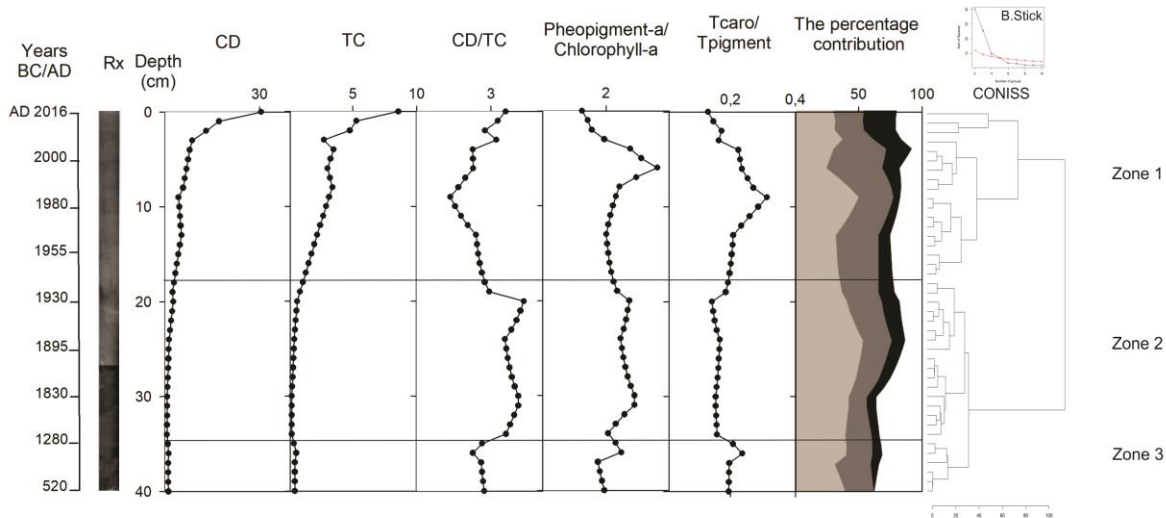


Figure 6. Indicators of trophic conditions and pigment degradation in Laguna Grande de San Pedro. CD, TC, CD/TC ratio, pheopigment-a/chlorophyll-a, Total carotenoids/ Total pigments and the percentage of contribution of the algal carotenoids: cyanobacteria (light gray), lutein (dark gray), alloxanthin (black) and diatoxanthin (white)

LCSP is characterised by an abundant signal of carotenoids, mainly alloxanthin, which are a specific indicator of the cryptophytes community (Fig. 5), representing approximately an average of $43 \pm 11\%$ of the total carotenoid concentration in the sediment profile. It was followed by $37 \pm 12\%$ of diatoxanthin (diatoms, dinoflagellates and chrysophytes indicator). The $13.85 \pm 7.43\%$ of cyanobacteria contribution and a minor signal of lutein (Green algae, euglenophytes and higher plants) with $6.95 \pm 4.1\%$ of average, also were represented. In contrast, LGSP displayed an abundant signal of cyanobacteria community representing an average of $42 \pm 6\%$ mainly for zeaxanthin, canthaxanthin and echinenone (Fig. 6), followed by diatoxanthin ($27 \pm 8.7\%$), lutein ($22 \pm 4.6\%$) and a low signal of alloxanthin ($8.54 \pm 3.6\%$) through the sediment profile.

Significant association were detected between the $RABD_{660-670}$ and the total carotenoids (p -value $< 0,001$; Adjusted $R^2 = 0,708$), biogenic silica (p -value = $0,015$; Adjusted $R^2 = 0,121$) and $d^{13}C$ (p -value $< 0,001$; Adjusted $R^2 = 0,708$) to Laguna Grande. Instead, Laguna Chica showed statistically differences between the proxies of $RABD_{660-670}$ with biogenic silica (p -value = $0,21$; Adjusted $R^2 = 0,056$) and $d^{13}C$ (p -value = $0,031$; Adjusted $R^2 = 0,048$) (Figure 7a y b).

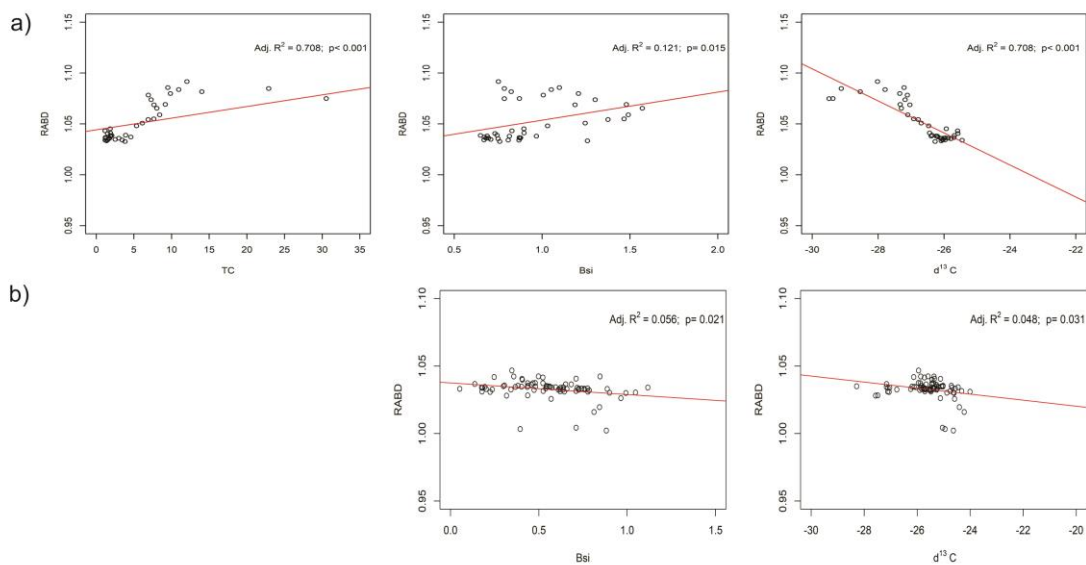


Figure 7. Linear regression of RABD₆₆₀₋₆₇₀ related to total chlorophylls (TC), biogenic silica (BSi) and d¹³C with statistically significance (p < 0,05) for Laguna Grande (a) and Laguna Chica (b).



Discussion

Evidence of historical environmental processes of both lakes has been documented, where the increase of nutrient inputs, organic matter and sedimentation rates were promoted by human intervention and local environmental conditions. It has accelerated the changes in trophic state, water quality and degradation nowadays in LGSP and LCSP (Parra, 1989; Cisternas et al. 2000; Cruces et al. 2001). This study provided the VIS-RS application to the lake sediments for LCSP and LGSP. R_{660/670} and R_{570/630} values showed a significant shift around ~1000 AD for LCSP, besides other productivity proxies, such as RABD₆₆₀₋₆₇₀, indicating low primary production values. The trends of the productivity proxies analysed in this study are consistent with those identified in Montes et al. (2021), confirming low productivity between 650-950 AD.

Our results evidenced coincidences identified within a period between 850 to 1050 AD to BSi, C/N ratio, δ¹³C, δ¹⁵N and TN values. These values might be associated with cold temperatures and moisture identified by Fletcher & Moreno (2012). El Niño-like conditions were possibly linked to our results in a period between 650 and 950 AD, coinciding with a period suggesting low productivity in

this area (Montes et al. 2021). Despite the increase in LGSP for $R_{570/630}$, $RABD_{660-670}$ and $\delta^{15}N$ around 972 AD, apparently to the values in the diagenesis degree of the pigment, it suggests that was not affected by these changes. Nevertheless, the lowest BSi values and CD/TC ratio in LCSP and LGSP, around ~1000 AD, indicated a low primary production (Swain, 1985; Schneider et al. 2018; Zander et al. 2020) for both lakes coinciding with this event.

Moderate disturbances in LCSP and LGSP watersheds have been documented for this area around the middle of the XVI century with the arrival of Europeans (Aronson et al. 1998; Torrejon and Cisternas, 2002). Our findings indicated an increase around 1536 AD in LCSP for $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$, BSi, C/N ratio and $\delta^{13}C$ and variations of the high CD/TC ratio, from 1536 AD onwards, with possible conditions of moderate nutrient enrichment and a trend towards progressive eutrophication for this lake.

LGSP showed changes in C/N ratio, $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$, and the CD/TC ratio increased around 1560 AD, conceivably due to the erosion process and the increase of allochthonous supply from watersheds caused by Spanish settlement (Aronson et al. 1998; Parra et al. 1989; Torrejón & Cisternas, 2002; Adan et al. 2016), which generated slight disturbances, but is possibly the earliest human interventions for both lakes.

Noticeable values were detected in our results around ~1900 AD in LGSP for $R_{570/630}$, $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$, $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$, which could be associated with the mining effects of Lota, during the second half of the 19th century, where the devastation of native forest was generated and used for construct tunnels and posts for mining (Cortes, 2018). In fact, the deforestation of native forests in Concepción forced the company to begin the pine and eucalyptus plantations in 1895 and develop around 1907, which led to the deforestation of the coastal range persisting until the end of the 20th century (Otero, 2006). Likewise, increases from ~1930 AD onwards for BSi accompanied by a low CD/TC ratio is interpreted as a greater dominance of diatoms during that period as a result of erosive processes and carry-over of allochthonous organic matter enriching the aquatic system as a result of deforestation activities and replacement of native forest (Otero, 2006; Cortés, 2018).

Variations around ~1940 AD observed for C/N ratio and $\delta^{13}C$ in LCSP could be related to inputs of terrestrial organic matter supplies, increasing the productivity in this ecosystem (Reuss et al. 2005; Zhang et al. 2019), observed noticeable in CD/TC ratio, pheopigment-a/chlorophyll-a and Tcarotenoid/Tpigment relation. These variations likely are associated with a gradually period of high sediments supply in LCSP recorded from AD 1883 to 1948 by several authors, reflected by a period of eutrophication-related mainly to commercial logging of remaining native forest in the watershed and its posterior replacement for forestry of exotic species (*Pinus radiata*) (Cisternas et al. 1997; Urrutia et al. 2000; Cisternas et al. 2001;

Cisternas & Araneda 2001). Shifts around ~1984 AD were observed in LGSP, for $R_{570/630}$, $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$, C/N ratio, $\delta^{13}C$ and TN, showing a trend toward greater allochthonous inputs with an increase of lacustrine productivity linked to anthropogenic activities such as the clear-cut of the forestry plantation, that began at the end of 19th century and were intensified in the mid of 20th century registered in previous researches in this area (Urrutia et al. 2000; Cisternas et al. 2001; Fagel et al. 2010).

A significant peak for CD/TC ratio, pheopigment-a to chlorophylla-a and Tcarotenoid/TPigment around ~1930 AD for LGSP, was interpreted as an effect of the high sedimentation rates and an increase in hydrocarbons, fatty acids and organic matter described by Urrutia et al. (2000), Cisternas et al. (2001) and Cruces et al. (2001). In the last decades from 2000 AD onwards, this relationship increased what was interpreted as a shift towards nutrient-enriched conditions, possibly due to changes in land use that include the expansion of urbanisation, tourist and recreational activities and the replacement of native forests by exotic species for commercial purposes (Parra, 1989; Parra et al. 2003)

Good preservation of pigments for LGSP was observed due to the low ratio of pheopigment-a to chlorophyll-a found (Reuss et al.2005; Zhang et al.2019), while preservation in LCSP sediment core was fairly good. Relatively preserving carotenoids, keeping an enhancement for last decades with a decrease nowadays for both lakes (Zhang et al. 2020). The presence of specific fossil pigments through the stratigraphy of sediment core indicated that cryptophytes, diatoms, green algae and cyanobacteria had been the algal groups in LCSP. At the same time, the cyanobacteria community significantly contributed to other groups of algae during the last 150 years for LGSP. The most significant change observed in the percentage contribution profile was the increase in cyanobacteria between 1900 AD and 1980 AD, resulting from anthropic activities around the watershed and environmental conditions (Parra et al.2003, Almanza et al.2016).

Conclusion

Changes that occurred in LCSP and LGSP watersheds showed the influence of the anthropogenic activities related to the arrival of Europeans and the land use in the last centuries and local environmental conditions as the influence on Niño-like through both sediment profiles. Substantial human disturbances in the watershed of both lakes have been observed with the most crucial change in LCSP since ~1500 AD. Instead for LGSP was considered since ~1940 AD. We used the technique VIS-RS and others indicators of primary production, which have the advantage of generating data rapidly with minimal costs. Besides, it is a non-destructive method, useful for tracking and interpreting trophic changes in aquatic primary production. LCSP and LGSP records suggest that VIS-RS is a reliable

technique to reveal variations in the aquatic production in lacustrine sediments at longer time scales.

Funding: This research was funded by the National Research and Development Agency (ANID, according to its initials in Spanish), the project ANID/FONDAP/15130015, the ERASMUS PLUS, and the Wallonie-Bruxelles International for the scholarship's benefits grants and doctoral research staying in Belgium

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgements: We would like to thank the Directorate for Scientific, Humanistic and Technological Research (DICIHT, according to its initials in Spanish), from the National Autonomous University of Honduras, Raúl O. Figueroa, Luis F. Fiallos. Furthermore, we acknowledge Elie Verleyen, Nathalie Fagel, Gilles Lepoint, Sabine Schmidt for logistic and technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.



References

- Adán, L.; Rodrigo, M.; Navarro, X.; Campbell, R.; Quiroz, D.; Sánchez, M. (2016). Historia prehispánica de la región Centro-Sur de Chile: cazadores-recolectores holocénicos y comunidades alfareras (ca. 10.000 años a.C. a 1.550 años d.C.). In *Prehistoria en Chile: desde sus primeros habitantes hasta los Incas*; Falabella, F.; Uribe, M.; Sanhueza, L., Aldunate, C.; Hidalgo, J. Eds. *Editorial Universitaria*, Santiago de Chile, pp. 401-441.
- Almanza, V.; Parra, O.; Bicudo, C. E.; Gonzalez, M.; López, M.; Urrutia, R. (2016). Floraciones de fitoplancton y variación de la estructura comunitaria fitoplanctónica en tres lagos someros eutróficos de Chile Central. *Gayana Bot.* 73(2), 191-205. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432016000200191>
- Anderson, J. Miniview. (2000). Diatoms, temperature and climatic change. *Eur. J. Phycol.* (35) 4, 307-314. <https://doi.org/10.1080/09670260010001735911>
- Arnell, N.; Halliday, S.; Battarbee, R.; Skeffington, R.; Wade, A. (2015). The implications of climate change for the water environment in England. *Prog Phys Geogr.* 39(1), 93-120. <https://doi.org/10.1177/0309133314560369>

- Aronson, J.; Del Pozo, A.; Ovalle, C.; Avendaño, J.; Lavin, A.; Etienne, M. (1998). Land Use Changes and Conflicts in Central Chile. In Landscape Disturbance and Biodiversity in Mediterranean-Type Ecosystems; Rundel, P.W.; Montenegro, R.G.; Jaksic, F.M. Eds.; *Ecological Studies, Berlin*, pp. 155–168.
- Astorquiza, O.; Galleguillos, O. (1952). Cien años del carbón de Lota 1852-1952. Cia Carbonifera e Industrial de Lota. Lota, Santiago de Chile.
- Bates, B.; Kundzewicz, Z.; Wu, S.; Palutikof, J. (2008). Climate Change and Water. Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC. *Secretariat, Geneva*. 210.
- Blaauw, M. (2010). Methods and code for 'classical' age-modelling of radiocarbon sequences. *Quat. Geochronol.*, 5, 5, 512-518. <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2010.01.002>
- Carey, C.; Ibelings, B.; Hoffmann, E.; Hamilton, D.; Brookes, J. (2012). Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Res.* (46), 1397-1407. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.016>
- Cartes, A. (2019). “La Ciudad Del Hollín”. Desarrollo Industrial Y Deterioro Ambiental En La Cuenca Del Carbón”. *Historia* 396, 8(2), 27–53.
- Chirinos, L.; Rose, N.L.; Urrutia, R.; Muñoz, P.; Torrejón, F.; Torres, L.; Cruces, F.; Araneda, A.; Zaror, C. (2006). Environmental evidence of fossil fuel pollution in Laguna Chica de San Pedro lake sediments (Central Chile). *Environ Pollut.* 141, 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.049>
- Cisternas, M.; Araneda, A.; Retamal, O.; Urrutia, R. (1997). Sedimentos como indicadores de eventos erosivos en una pequeña cuenca lacustre de Chile Central. *Espacio y Desarrollo*. 9, 103–116.
- Cisternas, M.; Torres, L.; Urrutia, R.; Araneda, A.; Parra, O. (2000). Comparación Ambiental, mediante registros sedimentarios, entre condiciones prehispánicas y actuales. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 73, 151–162. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000100014>
- Cisternas-Vega, M.; Torrejón-Godoy, F. (2002). Cambios de Uso del Suelo, Actividades Agropecuarias e Intervención Ambiental Temprana en una Localidad fronteriza de la Araucanía (S. XVI-XIX). *Rev Geogr Norte Gd.* 29, 83–94.
- Cruces, F.; Urrutia, R.; Araneda, A.; Torres, L.; Cisternas, M.; Vyverman, W. (2001). Evolución trófica de Laguna Grande de San Pedro (VIII Región,

- Chile) durante el último siglo, mediante el análisis de registros sedimentarios. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 74, 407–418. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2001000200015>
- Das, B. (2007). Reconstruction of historical productivity using visible-near-infrared (VNIR) reflectance properties from boreal and saline lake sediments. *Aquat Ecol*, 41, 209–220 <https://doi.org/10.1007/s10452-006-9071-1>
- De Senerpont Domis, L.; Mooij, W.; Huisman, J. (2007). Climate-induced shifts in an experimental phytoplankton community: a mechanistic approach. *Hydrobiol. J.* 584:403–413. <https://doi.org/s10750-007-0609-6>
- Dobry, R.; Poblete, M. (1966). Densidades máximas y mínimas de las arenas Bio-Bio. *Revista IDIEM.* 5(3), 151-159. Available: <https://revistaidiem.uchile.cl/index.php/RIDIEM/article/view/38465>
- Fagel, N.; Bertrand, S.; Mattielli, N.; Gilson, D.; Chirinos, L.; Lepoint, G.; Urrutia, R. (2010). Geochemical evidence (C, N and Pb isotopes) of recent anthropogenic impact in south-central Chile from two environmentally distinct lake sediment records. *J. Quat. Sci.* 25(7), 1100–1112. <https://doi.org/10.1002/jqs>
- Fletcher, M.S.; & Moreno, P. I. (2012). Vegetation, climate and fire regime changes in the Andean region of southern Chile (38°S) covaried with centennial-scale climate anomalies in the tropical Pacific over the last 1500 years. *Quat. Sci. Rev.* 46, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2012.04.016>
- Freudenthal, T.; Wagner, T.; Wenzhofer, F.; Zabel, M.; Wefer, G. (2001). Early diagenesis of organic matter from sediments of the eastern subtropical Atlantic: Evidence from stable nitrogen and carbon isotopes. *Geochim. Cosmochim.*, 65, 1795–1808. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00554-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00554-3)
- Fuentealba, C.; Henríquez, O. (2009). Rol de las poblaciones de *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) (Bivalvia: HYRIIDAE) en el estado trófico de la Laguna Chica de San Pedro (Chile). *Comun Soc Malacol Urug.* 9(92), 195–200. Available online: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=52414008003> (Accessed on 14 september 2019).
- Gregory-Eaves, I.; Beisner, B. (2011). Palaeolimnological insights for biodiversity science: an emerging field. *Freshw. Biol.* 56, 2653-2661. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2011.02677.x>
- Grimm, E. C. (1987). CONISS: a FORTRAN 77 program for stratigraphically constrained cluster analysis by the method of incremental sum of squares. *Computers & Geosciences*, 13(1), 13–35. [https://doi.org/10.1016/0098-3004\(87\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0098-3004(87)90022-7)

- Guiry, E. (2019). Complexities of Stable Carbon and Nitrogen Isotope Biogeochemistry in Ancient Freshwater Ecosystems: Implications for the Study of Past Subsistence and Environmental Change. *Front. Ecol. Evol.* (7) 24. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00313>
- Hausmann, S. Pienitz, R. (2007). Seasonal climate inferences from high-resolution modern diatom data along a climate gradient: a case study. *J Paleolimnol.* 38:73–96. <https://doi.org/10.1007/s10933-006-9061-2>
- Hogg, A.G.; Hua, Q.; Blackwell, P. G.; Niu, M.; Buck, C.E.; Guilderson, T.P.; Heaton, T.J.; Palmer, J.G.; Reimer, P.J.; Reimer, R.W.; Turney, C.S.M.; Zimmerman, S.R.H. (2013). SHCAL 13 Southern hemisphere calibration 0-50,000 years cal. *Radiocarbon*, 55,4,1889-1903. https://doi.org/10.2458/azu_js_rc.55.16783
- Jeppensen, E.; Meerhoff, M.; Davinson, T.; Trolle, D.; Sondergaard, M.; Lauridsen, T.; Beklioglu, M.; Brucer, S.; González-Bergonzini, I.; Nielsen, A. (2014). Climate change impacts on lakes: an integrated ecological perspective based on a multi-faceted approach, with special focus on shallow lakes.. *J. Limnol.* 73 (sl) 84-107 <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2014.844>
- Jiménez, L., Romero-Viana, L., Conde-Porcuna, J. M., & Pérez-Martínez, C. (2015). Sedimentary photosynthetic pigments as indicators of climate and watershed perturbations in an alpine lake in southern Spain. *Limnetica*, 34, 439–454. <https://doi.org/10.23818/limn.34.33>
- Juggins, S. (2020). *rioja: Analysis of Quaternary Science Data*. <https://cran.r-project.org/package=rioja> 
- Leavitt, P.R.; Hodgson, A. (2001). Sedimentary pigments. In Tracking environmental change using lake sediments: Volume 3: Terrestrial, algal and siliceous indicators. Smol, J.P.; Birks, H.J.B.; Last W.M. Eds. *Kluwer Academic Publishers: New York, USA*, pp. 295–325. <https://doi.org/10.1007/0-306-47668-1>
- Legendre P; Gallagher E.D. (2001). Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, 129:271-280. <https://doi.org/10.1007/s004420100716>
- Maberly, S.C.; O'Donnell, R.A.; Woolway, R.I.; Cutler, M.E.J.; Gong, M.; Jones, I.D.; Merchant, C.; Miller, C.; Politi, E.; Scott, E. M.; Thackeray, S.J.; Tyler, A. (2020). *Global lake thermal regions shift under climate change*. *Nat. Commun.* 11:1232 <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15108-z>

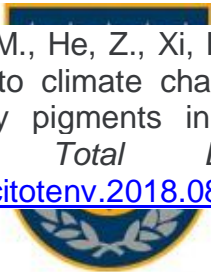
- Magee, M.R.; Wu, C.H. (2017). Response of water temperatures and stratification to changing climate in three lakes with different morphometry.. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 21: 6253–6274, 2017 <https://doi.org/10.5194/hess-21-6253-2017>
- Malone, T.C.; Newton, A. (2020). The Globalization of Cultural Eutrophication in the Coastal Ocean: Causes and Consequences. *Front. Mar. Sci.* 7:670. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00670>
- Martinez, C., Rojas, C., Rojas, O., Quezada, J., Lopez, P., Ruiz, V. (2016). Crecimiento urbano sobre geformas costeras de la llanura de San Pedro, área Metropolitana de Concepción. In: En las costas del Neoliberalismo: naturaleza, urbanización y producción inmobiliaria: experiencias en Chile y Argentina; Hidalgo R., Santana, D., Voltaire, A. Arenas, F., Salazar, A., Valdebenito, C., Alvarez, L., Eds, *Geolibros* No. 23.Santiago, Chile. 287-312.
- Matsumoto, G., Honda, E., Seto, K., Tani, Y., Watanabe, T., Ohtani, S., Kashima, K., Nakamura, T., & Imura, S. (2014). Holocene paleolimnological changes of Lake Oyako-ike in the Soya Kaigan of East Antarctica. *Inland waters : journal of the International Society of Limnology*, 4(2), 105–112. <https://doi.org/10.5268/iw-4.2.679>
- Meyer, I.; Daele, M.; Van Fiers, G.; Verleyen, E.; Batist, M.De; Verschuren, D. (2018). Sediment reflectance spectroscopy as a paleo-hydrological proxy in East Africa. *Limnol. Oceanogr. Methods*, 16, 92–105. <https://doi.org/10.1002/lom3.10239>
- Michelutti, N., Blais, J.M., Cumming, B.F., Paterson, A.M., Rühland, K.M., Wolfe, A.P., & Smol, J.P. (2010). Do spectrally inferred determinations of chlorophyll a reflect trends in lake trophic status?. *Journal of Paleolimnology*, 43, 205-217. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9325-8>
- Montes, I.-Y., Banegas-Medina, A., Fagel, N., El Ouahabi, M., Verleyen, E., Alvarez, D., Torrejón, F., Schmidt, S., Lepoint, G., Diaz, G., Pedreros, P., & Urrutia, R. (2021). Late Holocene paleoenvironmental evolution of two coastal lakes in Mediterranean Chile and its implications for conservation planning. *Applied Sciences (Basel, Switzerland)*, 11(8), 3478. <https://doi.org/10.3390/app11083478>
- Nyssen, F.; Brey, T.; Lepoint, G.; Bouquegneau, J.M.; De Broyer, C.; Dauby, P. (2002). A stable isotope approach to the eastern Weddell Sea trophic web: focus on benthic amphipods. *Polar Biol*, 25, 280–287. <https://doi.org/10.1007/s00300-001-0340-0>

- Otero Durán, L. (2008). La huella del fuego. Historia de los bosques nativos. Poblamiento y cambios en el paisaje del sur de Chile. Santiago: CONAF - kfw, gtz, ded - Pehuén Editores, 2006, 171 pp. *Historia crítica (Bogota, Colombia)*, 36, 228–234. <https://doi.org/10.7440/histcrit36.2008.12>
- Paerl, H.W.; Scott, J.T. (2010). Throwing Fuel on the Fire: Synergistic Effects of Excessive Nitrogen Inputs and Global Warming on Harmful Algal Blooms. 44, 7756–7758. *Environ. Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1021/es102665e>
- Paerl, H.W.; Wayne S. G.; Havens, K.E.; Joyner, A.R.; McCarthy, M.J.; Newell, S.E.; Qin, B.; Scott, J.T. (2016). Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted by climate change and anthropogenic nutrients. *Harmful Algae*. 54: 213–222. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2015.09.009>
- Parra, O. (1989). La eutroficación de la Laguna Grande de San Pedro, Concepción, Chile: un caso de estudio. *Ambient. Desarro.* 1, 117–136.
- Parra, O.; Valdovinos, C.; Urrutia, R.; Cisternas, M.; Habit, E.; Mardones, M. (2003). Caracterización y tendencias tróficas de cinco lagos costeros de Chile Central. *Limnetica*. 22 (1–2), 51–83.
- R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing, version 2.6.2. R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria 2016 Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 14 september 2018)
- Ramsey, C.B. (2005). OxCal Program Version 3.10; Manual; Oxford Radiocarbon Accelerator Unit: Oxford, UK, Available online: <https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal3/oxcal.htm> (accessed on 10 October 2020).
- 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, 950-954. DOI <https://10.1007/s00531-002-0264-0>
- Reuss, N. (2005). Sediment pigments as biomarkers of environmental change. Ph.D. thesis. National Environmental Research Institute, Roskilde, *University of Copenhagen, Denmark*.
- Romero-Viana, L., Keely, B. J., Camacho, A., Vicente, E., & Miracle, M. R. (2010). Primary production in Lake La Cruz (Spain) over the last four centuries: reconstruction based on sedimentary signal of photosynthetic pigments. *Journal of Paleolimnology*, 43(4), 771–786. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9367-y>

- Sanchini, A.; Szidat, S.; Tylman, W.; Vogel, H.; Wacnik, A.; Grosjean, M.A. (2020). Holocene high-resolution record of aquatic productivity, seasonal anoxia and meromixis from varved sediments of Lake Łazduny, North-Eastern Poland: insight from a novel multi-proxy approach. *J. Quat. Sci.* 1–11. Doi: [10.1002/jqs.3242](https://doi.org/10.1002/jqs.3242)
- Schneider, T.; Rimer, D.; Butz, C.; Grosjean, M. (2018). A high-resolution pigment and productivity record from the varved Ponte Tresa basin (Lake Lugano, Switzerland) since 1919: insight from an approach that combines hyperspectral imaging and high-performance liquid chromatography. *J. Paleolimnol.* 60(3), 381–398. <https://doi.org/10.1007/s10933-018-0028-x>
- Swain, E. B. (1985). Measurement and interpretation of sedimentary pigments. *Freshwater Biology*, 15(1), 53–75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1985.tb00696.x>
- Torrejón, F.; Cisternas, M. (2002). Alteraciones del paisaje ecológico araucano por la asimilación mapuche de la agroganadería hispanomediterránea (siglos XVI y XVII). *Rev. Chil. Hist. Nat.* 75(4):729-736. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2002000400008>
- Torrejón, F.; Cisternas, M. (2003). Impacto ambiental temprano en la Araucanía deducido de crónicas españolas y estudios historiográficos. *Bosque (Valdivia)*, 24(3), 45-55. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002003000300005>
- Urrutia, R.; Sabbe, K.; Cruces, F.; Pozo, K.; Becerra, J.; Araneda, A.; Vyverman, W.; Parra, O. (2000). Paleolimnological studies of Laguna Chica of San Pedro (VIII Region): Diatoms, hydrocarbons and fatty acid records. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 73, 717–728. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000400014>
- Van Heukelem, L., & Thomas, C. S. (2001). Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *Journal of Chromatography A*, 910(1), 31–49. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(00\)00603-4](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(00)00603-4)
- Vaslet, A.; Bouchon-Navaro, Y.; Harmelin-Vivien, M.; Lepoint, G.; Louis, M.; Bouchon, C. (2015). Foraging habits of reef fishes associated with mangroves and seagrass beds in a Caribbean lagoon: a stable isotope approach. *Cienc. Mar.* 41(3), 217–232. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i3.2494>
- Veit, H. (1996). Southern Westerlies during the Holocene deduced from geomorphological and pedological studies in the Norte Chico, Northern Chile (27–33°S). *Palaeogeography, Palaeoclimatology,*

Palaeoecology, 123(1–4), 107–119. [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(95\)00118-2](https://doi.org/10.1016/0031-0182(95)00118-2)

- Verleyen, E.; Hodgson, D.A.; Sabbe, K.; Vyverman, W. (2005). Late Holocene changes in ultraviolet radiation penetration recorded in an East Antarctic lake. *J. Paleolimnol*, 34, 191–202. <https://doi.org/10.1007/s10933-005-4402-0>
- 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. <https://doi.org/10.1177/0959683609336573>
- Woolway, R.I.; Kraemer, B.M.; Lenters, J.D.; Merchant, C. J.; O'Reilly, C.M.; Sharma, S. (2020). Global lake responses to climate change. *Nat. Rev. Earth Environ.* <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0067-5>
- Zander, P. D., Żarczyński, M., Vogel, H., Tylmann, W., Wacnik, A., Sanchini, A., & Grosjean, M. (2020). A high-resolution record of Holocene primary productivity and water-column mixing from the varved sediments of Lake Żabińskie, Poland. *The Science of the Total Environment*, 755(Pt 2), 143713. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143713>
- Zhang, H., Huo, S., Yeager, K. M., He, Z., Xi, B., Li, X., Ma, C., & Wu, F. (2019). Phytoplankton response to climate changes and anthropogenic activities recorded by sedimentary pigments in a shallow eutrophied lake. *The Science of the Total Environment*, 647, 1398–1409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.081>



CAPITULO III

In preparation

An ancient DNA baseline to trace environmental changes in two coastal lakes of the Mediterranean coast of Chile.

Isis-Yelena Montes^{1,2*}, Andy Banegas-Medina^{1,2}, Nathalie Fagel³, Meriam El Ouahabi³, Elie Verleyen⁴, Denisse Alvarez^{1,5}, Fernando Torrejón¹, Sabine Schmidt⁶, Annick Wilmotte⁷ and Roberto Urrutia¹

¹ Department of Aquatic Systems, Faculty of Environmental Science, Centre of Environmental Science EULA-Chile and CHRIAM Water Research Centre, Universidad de Concepción, P.O. box 160-C, Concepción, Chile; imontes@udec.cl (I.-Y.M.); bbanegas@udec.cl (A.B.-M.); dealvarez@udec.cl (D.A.); ftorrejo@udec.cl (F.T.); gusdiaz@udec.cl (G.D.); papedrer@udec.cl (P.P.); rurrutia@udec.cl (R.U.).

² Department of Sciences, Laboratory of Biology, Danlí Technological Campus, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Panamerican Highway km 95, Danlí, Honduras.

³ Departement of Geology, AGEs, University of Liège, Liège, Quartier Agora, allée du six Août 14, 4000 Liège, Belgium; nathalie.fagel@uliege.be (N.F.); meriam.elouahabi@uliege.be (M.E.).

⁴ Department of Biology, Laboratory of Protistology and Aquatic Ecology, Ghent University, Krijgslaan 281-S8, B-9000 Ghent, Belgium; Elie.Verleyen@UGhent.be (E.V.).

⁵ Facultad de Ciencias, Universidad Santo Tomás. Concepción, Chile.

⁶ CNRS, Univ. Bordeaux, EPOC, EPHÉ, UMR 5805, F-33615 Pessac, France; sabine.schmidt@u-bordeaux.fr (S.S.).

⁷ Centre for Protein Engineering, Institute of Chemistry B6, University of Liege, 4000 Liege, Belgium; awilmotte@ulg.ac.be

* Correspondence: imontes@udec.cl

Department of Aquatic Systems, Faculty of Environmental Science, Center of Environmental Science EULA-Chile, Universidad de Concepción, P.O. box 160-C, Concepción, Chile.

Email: yelenamontes@gmail.com

Phone: +504 9963 2412

Paper type: Original research in preparation

Abstract

Aquatic ecosystems are influenced by environmental changes mainly due to climate change and anthropogenic activities. An alteration in the community of algae can affect the structure and functioning of the ecosystems and alternate the water quality. Novel researchers used ancient DNA from lakes sediments to track the environmental conditions. The Mediterranean coast of Chile is an interesting area where detecting trends will support environmental managers' decisions, allowing them to respond more effectively to environmental changes and proactively avoid or mitigate them. This study extracted DNA from sediments of Laguna Chica (LCSP) and Laguna Grande de San Pedro (LGSP) with the PowerSoil DNA. The samples with the possible signal for sequencing were for LCSP 0-1 and 3-4, corresponding to 2012 AD and 1995 AD, respectively, while LGSP, the samples were 0-1, 3-4 and 19-20 correspond to 2016, 2006 and 1940 AD respectively. The data sequence is needed to get evidence of the involved species and their morphological features in both lakes based on molecular techniques.

Keywords: *lake sediment, ancient DNA, Cyanobacterial community, eutrophication, quantitative PCR.*

Introduction

Environmental changes in lake ecosystems are influenced by climate change and anthropogenic activities in the watershed, which in the long term

trigger economic, ecological and human health consequences (Marshall & Randhir, 2008; Blois et al. 2013; Domaizon et al. 2017; O'Beirne et al. 2017). However, today climate change and eutrophication are the most urgent issues from the environmental perspective (Zhang et al. 2019). Eutrophication has occurred in lakes around the world, affecting citizens' production, life, and drinking water sources (Zhidkova et al. 2020); it is considered a low natural process accelerated by a nutrient increase due to anthropogenic activities in the last centuries (Khan & Ansari, 2005). The effects of global warming are expected to stimulate eutrophication in shallow lakes because a higher temperature favours algae growth (Moss et al. 2011; Zhang et al. 2019).

Nevertheless, anthropogenic activities such as land-use change, population increase and industrial activities are responsible for changing the dynamics of lake biological communities (Karlsson et al. 2016; Zeng et al. 2018). Algae are primary producers in aquatic ecosystems; an alteration in community diversity directly influences the structure of aquatic food webs and ecosystem functioning (Smol et al. 2005; Caro & Hutchins, 2013; Capo et al. 2016; Capo et al. 2017). This alteration in algal diversity can produce cyanobacterial blooms, which due to their highly toxic characteristics, can cause effects in animals and limit the use of lake water for human activities, thus being a serious threat to water quality (Kosten et al. 2012; Sukenik et al. 2015; Tse et al. 2018; Yang et al. 2016).



Lake sediment cores are excellent for providing long-term records of environmental changes, including changes in biological community structures (Chen et al. 2019; Savichtcheva et al. 2015). In addition, the use of DNA from lake sediment communities helps describe the presence of organisms that lack morphological characteristics or have undergone environmental degradation (Boere et al. 2011; Domaizon et al. 2013; Domaizon et al. 2017; Savichtcheva et al. 2015). Unlike other environmental matrices where DNA may be unstable over time, lake sediments due to cold and anoxic characteristics can preserve for long periods this genetic material (Capo et al. 2017; Chen et al. 2019; Ficetola et al. 2018; Martinez De La Escalera et al. 2014; Tse et al. 2018).

Due to climate change and anthropogenic activities, some areas are more sensitive to environmental changes (Zhao et al. 2019; Teng et al. 2020). One of these sensitive areas is the Mediterranean coast of Chile, a climatic and vegetational transition zone where anthropogenic activities have been reported during the last 500 years (Cisternas, 2002; Cruces et al. 2001). Since the 16th century, anthropogenic activities have intensified in the area, such as the replacement of native forest by exotic forest plantations (*Pinus radiata* and *Eucalyptus* spp.), wheat cultivation, urbanisation and industrialisation processes, which have produced major environmental changes in the biological and physicochemical composition of the lakes (Chirinos et al. 2006; Cisternas, 2002; Cruces et al. 2001; Fuentealba & Henriquez, 2009).



Among the impacts that have been reported in the lakes is the change in diatom composition due to change in land use (Cruces et al. 2001; Parra, 1989; Urrutia et al. 2000) and harmful algal blooms of cyanobacteria in recent decades (Almanza et al. 2016) derived from the increase in global temperature and the increase in nutrients entering the lakes (Paerl and Paul 2012; Wanner et al. 2008; Woolway et al. 2020). The environmental changes that have occurred in these lakes are known not changes in cyanobacterial community structure have been assessed by DNA detection, research that is still very scarce in southern hemisphere lakes (Fernandez-Carazo et al. 2011; Fernandez-Carazo et al. 2013; Rigosi et al. 2014). This research aims to improve the understanding of the historical trends of cyanobacteria in lakes of the Mediterranean coast of Chile. This information will be helpful for decision making by environmental managers, allowing them to respond more effectively to environmental changes and avoid or mitigate these changes proactively.



Materials and Methods

Selected lakes and sampling

During the austral summer of 2016, we collected two sediment cores in the central and deepest part from Laguna Chica de San Pedro (LCSP) and Laguna Grande de San Pedro (LGSP). Both lakes are located northwest of the Nahuelbuta mountain range near the Pacific Ocean and south of the mouth of the Biobío River, which corresponds to the Mediterranean zone of Chile (Isla et al. 2012) (Figure 1). The LGSP is a shallow lake with a drainage basin of 12.5 km², a surface area of

1.55 km² and a maximum depth of 13.5 m. depth. Likewise, the LCSP is a small lake with a drainage basin of 4.5 km², a surface area of 0.87 km² and a maximum depth of 18 m. (Cruces et al. 2001; Isla et al. 2012; Torrejón & Cisternas, 2002).

A uwitec gravity core equipped with a 6 cm diameter Plexiglas tube was used to obtain the samples. After sample collection, the sediment cores were wrapped with aluminium foil to protect them from solar radiation and stored at 4°C. The preparation of the samples corresponded to sectioning the cores in 1 cm sections, starting from the lowest part of the cores. For dating, the samples were oven-dried and homogenised with a mortar and pestle before analysis. Sub-samples from the center of each section were obtained for DNA analysis to avoid possible contamination by contact with the core walls (Boutte et al. 2006). Sterilised instruments (forceps, sieves, vials, etc.) were realised between samples by flaming. Twenty slices were sampled for both sediment cores. Samples were stored in sterile 10 mL centrifuge tubes at -80°C, which were homogenised before analysis (Anderson-Carpenter et al. 2011). The samples were extracted and performed the PCR and the DGGE in the Centre for Protein Engineering, Institute of Chemistry University of Liege, Belgium.



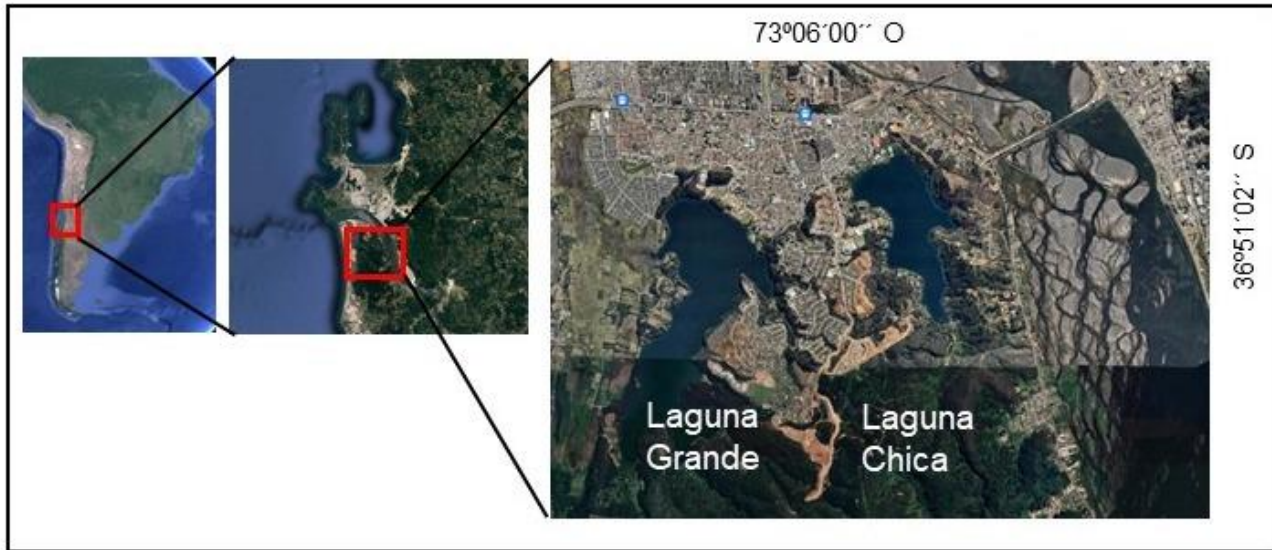


Fig. 1 Study area of Laguna Grande and Laguna Chica de San Pedro

Dating of sediment cores

Dating for both lakes (LCSP and LGSP) were logged in Clam (RStudio) using ^{210}Pb , ^{137}Cs and ^{14}C data (Montes et al (2021)). All subsamples were freeze-dried and homogenised using a mortar and pestle to fossil pigments analysis.



DNA extraction and PCR amplification

DNA extraction and PCR amplification were performed in a laminar flow hood sterilised with ultraviolet radiation for 30 min and sterilised with 6% sodium hypochlorite before use. According to the manufactures instructions, total DNA was extracted from 0.5 g aliquots of wet sediment with the PowerSoil DNA isolation kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, California, USA) (Boere et al. 2011). A modification for DNA extraction from Taton et al. (2003) was performed. A quantity of 0.5-g sample was frozen overnight and rinsed twice with 1 mL of phosphate-buffered

saline after glass beads were added and pressed with a pestle (Eppendorf, Hamburg, Germany) several times in a 2-mL Eppendorf tube. SNT solution (250 mL) was added with lysozyme. Through the pestle, cells were disrupted with the SNT solution.

The suspension was then incubated for 1 h at 37°C, mixing every 15 min. Later, 0.5 mL of solution II (Tris base 500 mM, EDTA 500 mM, SDS 1%, phenol 6%) was joined and vortexed for 30 min. The suspension was placed on ice for one hour and shaken by vortex every 10 min, and later it was centrifuged for 10 min at 720 g. The aqueous phase was mixed with an equivalent volume of phenol and centrifuged for 5 min at 13 600 g. The supernatant was transferred into tubes in equal volumes and extracted with phenol-chloroform–isoamyl alcohol (25 : 24 : 1). Precipitation of Na acetate–ethanol was performed, and when the pellet dried was resuspended in 200 mL of TE-4 buffer. The DNA was purified through the Mobio DNA UltraClean; it was eluted with 100 mL of TE-4 buffer (Fernandez-Carazo et al. 2011).

The method described by Taton et al. (2003), was used to perform the amplification for PCR of cyanobacterial 16S rRNA gene and ITS, with modifications, where 1 mL of DNA joined and the cycles of PCR were modified. Thermocycler was used for amplification with one cycle of 5 min at 95 °C; 35 cycles of 45 s at 95 °C; 45 s at 54 °C, 3 min at 68 °C and the elongation of 7 min at 68 °C. Three PCRs were performed, and the products were pooled, and negative

controls were included. PCR screening was performed with 16S359F and 16S781R primers (Fernandez-Carazo et al. 2011; Cankilic & Berk, 2016). According to Taton et al. (2003), two PCR reactions were run to produce 422-bp long fragments and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis for 999 min at 75 V and 60 °C was performed.

Results and Discussion

The environmental DNA extracted from the cyanobacterial communities in Laguna Chica y Laguna Grande de San Pedro provide a historical reconstruction that could explain the presence of this community in the past of these aquatic ecosystems. The confirmation of prokaryotic algal will reconstruct historical trends in both lakes. The genetic analysis in sediments could generate an integral approach with taxonomic information of cyanobacterial populations and can be used as a powerful tool for interpreting the primary production based on molecular techniques (Pal et al. 2015; Domaizon et al. 2017; Ellegaard et al. 2020).



The molecular approach is expected to recognise the main environmental changes that occurred during the last five centuries. The samples for LCSP and LGSP were selected considering the significant peaks found for organic matter, magnetic susceptibility, C/N ratio, biogenic silica, and fossil pigments for both sediment profiles based on data performed by Montes et al. 2021 and to be tested with three different kits for DNA extraction (Fig. 2). Besides, four samples were chosen, two for each lake with three replicates and their respective control.

SEDIMENT CORES AND SAMPLES SELECTED IN CENTIMETERS TO DNA ANALYSIS

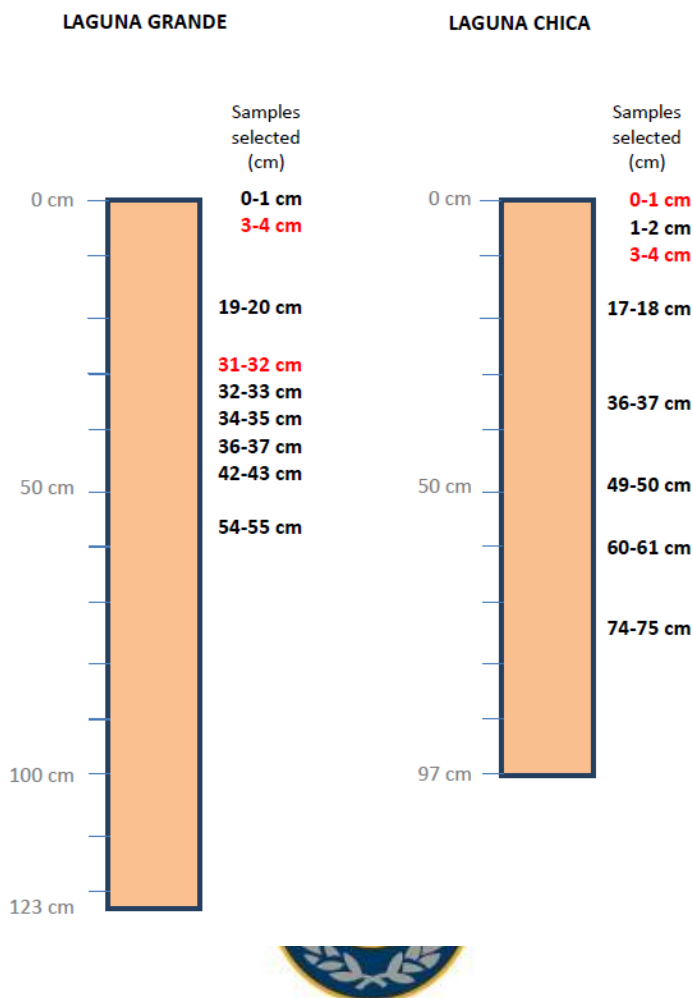


Fig. 2 The organic matter, magnetic susceptibility, C/N ratio, biogenic silica and fossil pigments profiles were used to select the samples to extract DNA from sediments.

The agarose gel concentration was selected according to the size of DNA fragments to separate. Hence, 1.0% of agarose gel (w / v) was used to get DNA size resolution of 500 bp to 10 kb (Fig.3) (Davis et al. 1986; Lee et al. 2012).

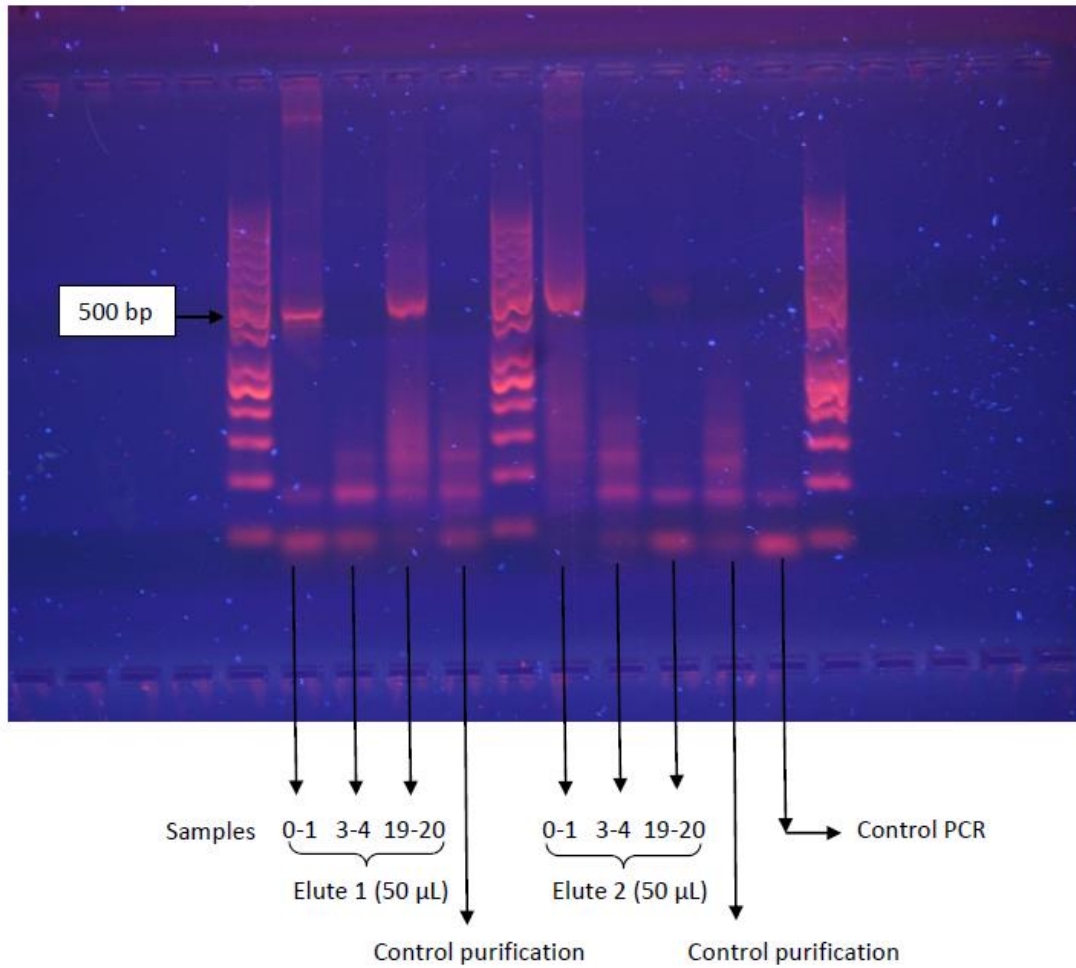


Fig. 3. The denaturing gradient gel electrophoresis DGGE patterns show the bands obtained with primers for Laguna Chica and Laguna Grande de San Pedro samples.

This molecular analysis is considered a potential approach that can provide a significant opportunity to know and interpret the variety of ancient algae communities in the aquatic ecosystems, identify biomarkers, and verify paleoenvironmental information from the past (Zhang et al. 2021). Furthermore, factors and conditions of DNA preservation are still unknown; for that reason,

techniques can be broadly applied, especially in sensitive areas such as the Mediterranean coast in Chile (Coolen & Gibson, 2009).

Conclusion

Molecular analysis lets detect and identify microorganisms from sediments, reconstruct the historical evolution and species adaptation from the past, and recognize their taxonomy. A sequence of data is needed to obtain evidence of the involved species and their morphological features. This work is expected to perform clones libraries and study the genotypic diversity of microorganisms, for this can follow the methodology described by Taton et al. (2003). Extractions were carried out with three different kits to test which one was the best for the sediment samples. The DNA power soil kit was used to extract and purify DNA from sediment with the Mobio DNA UltraClean resulting as the best option for extracting environmental DNA from sediments of LCSP and LCSP. The samples identified for sequencing were based on the sedimentological, biological results and PCR results for LCSP 0-1 and 3-4, corresponding to 2012 AD and 1995 AD, respectively, while LGSP, the samples were 0-1, 3-4 and 19-20 correspond to 2016, 2006 and 1940 AD respectively. The DNA extraction processes for sediment samples were complex, mainly due to the degradation processes, constituting a greater bias as the depth, temporality, physical, chemical and biological factors increase.



Funding: This research was funded by the National Research and Development Agency (ANID, according to its initials in Spanish), the project ANID/FONDAP/15130015, the ERASMUS PLUS, and the Wallonie-Bruxelles International for the scholarship's benefits grants and doctoral research staying in Belgium

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgements: We would like to thank the Directorate for Scientific, Humanistic and Technological Research (DICIHT, according to its initials in Spanish), from the National Autonomous University of Honduras, Raúl O. Figueroa, Luis F. Fiallos. Furthermore, we acknowledge Elie Verleyen, Nathalie Fagel, Gilles Lepoint, Sabine Schmidt for logistic and technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

- Almanza V, Parra O, Bicudo DM, et al. (2016) Floraciones de fitoplancton y variación de la estructura comunitaria fitoplanctónica en tres lagos someros eutróficos de Chile Central. *Gayana Botánica* 73(2):191-205
- Bates D, Chambers J, Dalgaard P, Falcon S, Gentleman R (2009) R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. 2009.
- Blaauw M (2010) Methods and code for 'classical' age-modelling of radiocarbon sequences. *quaternary geochronology* 5(5):512-518
- Blois JL, Zarnetske PL, Fitzpatrick MC, Finnegan S (2013) Climate change and the past, present, and future of biotic interactions. *Science* 341(6145):499-504
- Boere A, Rijpstra W, De Lange G, Sinninghe Damsté J, Coolen M (2011) Preservation potential of ancient plankton DNA in Pleistocene marine sediments. *Geobiology* 9(5):377-393
- Capo E, Debroas D, Arnaud F, et al. (2016) Long-term dynamics in microbial eukaryotes communities: A palaeolimnological view based on sedimentary DNA. *Molecular Ecology* 25(23):5925-5943
- Capo E, Debroas D, Arnaud F, Perga ME, Chardon C, Domaizon I (2017) Tracking a century of changes in microbial eukaryotic diversity in lakes driven by

nutrient enrichment and climate warming. *Environmental microbiology* 19(7):2873-2892

Caron DA, Hutchins DA (2013) The effects of changing climate on microzooplankton grazing and community structure: drivers, predictions and knowledge gaps. *Journal of Plankton Research* 35(2):235-252

Chen Y, Li P, Huang Y, et al. (2019) Environmental media exert a bottleneck in driving the dynamics of antibiotic resistance genes in modern aquatic environment. *Water research* 162:127-138

Chirinos L, Rose N, Urrutia R, et al. (2006) Environmental evidence of fossil fuel pollution in Laguna Chica de San Pedro lake sediments (Central Chile). *Environmental Pollution* 141(2):247-256

Cisternas Vega M (2002) Cambios de uso del suelo, actividades agropecuarias e intervención ambiental temprana en una localidad fronteriza de la Araucanía (S. XVI-XIX).

Cruces F, Urrutia R, Araneda A, Torres L, Cisternas M, Vyverman W (2001) Evolución trófica de Laguna Grande de San Pedro (VIII Región, Chile) durante el último siglo, mediante el análisis de registros sedimentarios. *Revista chilena de historia natural* 74(2):407-418

Domaizon I, Savichtcheva O, Debroas D, et al. (2013) DNA from lake sediments reveals the long-term dynamics and diversity of *Synechococcus* assemblages. *Biogeosciences* 10(6):3817-3838

Domaizon I, Winegardner A, Capo E, Gauthier J, Gregory-Eaves I (2017) DNA-based methods in paleolimnology: new opportunities for investigating long-term dynamics of lacustrine biodiversity. *Journal of Paleolimnology* 58(1):1

Fernandez-Carazo R, Hodgson DA, Convey P, Wilmotte A (2011) Low cyanobacterial diversity in biotopes of the Transantarctic Mountains and Shackleton Range (80–82 S), Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology* 77(3):503-517

Fernandez-Carazo R, Verleyen E, Hodgson DA, et al. (2013) Late Holocene changes in cyanobacterial community structure in maritime Antarctic lakes. *Journal of Paleolimnology* 50(1):15-31

Ficetola GF, Poulenard J, Sabatier P, et al. (2018) DNA from lake sediments reveals long-term ecosystem changes after a biological invasion. *Science Advances* 4(5):eaar4292

- Fuentealba C, Henriquez O (2009) Rol de las poblaciones de *Diplodon chilensis* (Gray, 1828)(Bivalvia: HYRIIDAE) en el estado trófico de la Laguna Chica de San Pedro (Chile). *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 9(92):195-200
- Hogg AG, Hua Q, Blackwell PG, et al. (2013) SHCal13 Southern Hemisphere calibration, 0–50,000 years cal BP. *Radiocarbon* 55(4):1889-1903
- Isla FI, Flory JQ, Martínez C, Fernández A, Jaque E (2012) The evolution of the Bío Bío delta and the coastal plains of the Arauco Gulf, Bío Bío Region: the Holocene sea-level curve of Chile. *Journal of Coastal Research* 28(1):102-111
- Karlsson IB, Sonnenborg TO, Refsgaard JC, et al. (2016) Combined effects of climate models, hydrological model structures and land use scenarios on hydrological impacts of climate change. *Journal of Hydrology* 535:301-317
- Kosten S, Huszar VL, Bécares E, et al. (2012) Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology* 18(1):118-126
- Martinez De La Escalera G, Antoniades D, Bonilla S, Piccini C (2014) Application of ancient DNA to the reconstruction of past microbial assemblages and for the detection of toxic cyanobacteria in subtropical freshwater ecosystems. *Molecular Ecology* 23(23):5791-5802
- Monchamp M-E, Spaak P, Domaizon I, Dubois N, Bouffard D, Pomati F (2018) Homogenisation of lake cyanobacterial communities over a century of climate change and eutrophication. *Nature ecology & evolution* 2(2):317-324
- Nübel U, Garcia-Pichel F, Muyzer G (1997) PCR primers to amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria. *Applied and environmental microbiology* 63(8):3327-3332
- O'Beirne M, Werne J, Hecky R, Johnson T, Katsev S, Reavie ED (2017) Anthropogenic climate change has altered primary productivity in Lake Superior. *Nature communications* 8(1):1-8
- Paerl HW, Paul VJ (2012) Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research* 46(5):1349-1363
- Parra O (1989) La eutroficación de la Laguna Grande de San Pedro, Concepción, Chile: un caso de estudio. *Ambiente y Desarrollo* 5(1):117-136
- Ramsey CB (2005) OxCal Program. Version 3.10.

- Rigosi A, Carey CC, Ibelings BW, Brookes JD (2014) The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. *Limnology and Oceanography* 59(1):99-114
- Savichtcheva O, Debroas D, Perga ME, et al. (2015) Effects of nutrients and warming on *P. lanktothrix* dynamics and diversity: a palaeolimnological view based on sedimentary DNA and RNA. *Freshwater Biology* 60(1):31-49
- Smol JP, Wolfe AP, Birks HJB, et al. (2005) Climate-driven regime shifts in the biological communities of arctic lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(12):4397-4402
- Sukenik A, Quesada A, Salmaso N (2015) Global expansion of toxic and non-toxic cyanobacteria: effect on ecosystem functioning. *Biodiversity and Conservation* 24(4):889-908
- Torrejón F, Cisternas M (2002) Alteraciones del paisaje ecológico araucano por la asimilación mapuche de la agroganadería hispano-mediterránea (siglos XVI y XVII). *Revista chilena de historia natural* 75(4):729-736
- Tse TJ, Doig LE, Tang S, et al. (2018) Combining high-throughput sequencing of seda DNA and traditional paleolimnological techniques to infer historical trends in cyanobacterial communities. *Environmental science & technology* 52(12):6842-6853
- Urrutia R, Sabbe K, Cruces F, et al. (2000) Paleolimnological studies of Laguna Chica of San Pedro (VIII Region): Diatoms, hydrocarbons and fatty acid records. *Revista Chilena de Historia Natural* 73(4):717-728
- Wanner H, Beer J, Bütikofer J, et al. (2008) Mid-to Late Holocene climate change: an overview. *Quaternary Science Reviews* 27(19-20):1791-1828
- Woolway RI, Kraemer BM, Lenters JD, Merchant CJ, O'Reilly CM, Sharma S (2020) Global lake responses to climate change. *Nature Reviews Earth & Environment* 1(8):388-403
- Yang Z, Zhang M, Shi X, Kong F, Ma R, Yu Y (2016) Nutrient reduction magnifies the impact of extreme weather on cyanobacterial bloom formation in large shallow Lake Taihu (China). *Water research* 103:302-310
- Zeng L, McGowan S, Cao Y, Chen X (2018) Effects of dam construction and increasing pollutants on the ecohydrological evolution of a shallow freshwater lake in the Yangtze floodplain. *Science of the Total Environment* 621:219-227

DISCUSIÓN GENERAL

El crecimiento demográfico y el consiguiente avance de la agricultura, la industrialización y la urbanización provocan un incremento del impacto humano sobre los medios naturales (Merga, 2021). Como consecuencia la composición física, química y biológica de los ecosistemas acuáticos han sido afectados, además de la reducción de sus caudales, su capacidad de almacenamiento, calidad y la dinámica del ciclo hidrológico en las cuencas (Parra, 1989; Parra *et al.* 2003). Varios de estos ecosistemas lacustres han reflejado estos efectos debido a los cambios en el uso del suelo y a la presión humana como respuesta a la demanda actual. Por otro lado, la inserción de muchos países a la globalización, ha generado una serie de transformaciones sociales, económicas y políticas en las sociedades, con consecuencias negativas para la gestión y la protección ambiental (Kies *et al.* 2021; Mititelu-Ionus *et al.* 2021).



En este proceso de transformaciones, Chile ha experimentado importantes cambios demográficos, rápido crecimiento económico y procesos de urbanización, posicionándose con un relevante papel en las economías mundiales (Coronado *et al.* 2022). No obstante, esto se traduce como una mayor presión sobre los recursos por el uso del suelo, como la demanda agrícola, forestal, ganadera y la industrialización, amenazando la salud de los ecosistemas acuáticos principalmente de las regiones mediterráneas, tal como se ha evidenciado en el

sistema lacustre de San Pedro (Laguna Grande y Laguna Chica) observado en los últimos años (Parra, 1989; Cruces et al. 2001; Parra et al. 2003).

De acuerdo a diversos autores, la costa Mediterránea de Chile corresponde a una zona de transición climática y vegetal, considerada como un área sensible para interpretar cambios ambientales debido a los impactos antrópicos y las alternancias climáticas (Jenny et al. 2002, Birks, 2006; Frugone et al. 2017). Considerando la escasez de información en el hemisferio sur y la relevancia de esta zona, se ha hecho necesario reconstruir la historia paleoambiental de Laguna Chica y Grande de San Pedro, cuyos registros evidencian la influencia de actividades antropogénicas durante los últimos 500 años (Objetivo 1; PAPER I; Tabla 1) (Cruces et al. 2001; Urrutia et al. 2000; Cisternas y Torrejón, 2002).



De esta manera, a través del presente trabajo se realizó una descripción sedimentológica, sílice biogénica, composición isotópica y pigmentos fósiles (Objetivo 2). Los hallazgos sugirieron que el principal cambio sedimentológico fue observado en la parte más profunda de ambos núcleos (PAPER I, Figura 3) y estaba relacionado al tamaño del sedimento de grano grueso y la alta susceptibilidad magnética, lo cual está relacionado con el suministro de sedimentos a escala local. De acuerdo a los modelos de edad reconstruidos, el cambio ocurrió alrededor del año 1 AD en ambas lagunas y con posibles fluctuaciones hidrológicas y procesos naturales relacionados con cambios en las cuencas (PAPER I, Figura 5) (Montes et al. 2021).

Tendencia de aumento de TOC y TN fueron observado para ambas lagunas, con un incremento de los aportes de materia orgánica en los años recientes. Sin embargo, los bajos valores encontrados en las partes profundas de las lagunas fueron asociados a un incremento de los procesos diagenéticos (Freudenthal et al. 2001; Bertrand et al. 2005).

Concomitante con los cambios de TOC y TN, radio C/N y $\delta^{15}\text{N}$ también aumentaron a partir del 1 AD, particularmente desde 450 y 520 AD en LCSP y LGSP, respectivamente, lo cual podría estar relacionado con un mayor aporte de materia orgánica derivado del área de la cuenca de ambos lagos, pero probablemente también al aumentó la producción primaria del lago, como lo demostraron los pigmentos fósiles (Montes et al. 2021). Estos pigmentos fueron detectados desde 450 AD en adelante para LCSP, pero no estaban presentes antes de este período y donde los carotenoides identificados sugieren la presencia de cianobacterias, clorofitas, bacilariofitas y dinoflagelados.

Incrementos de producción primaria evidenciada por los pigmentos fósiles desde 450 AD y 520 AD, para Laguna Chica y Grande, respectivamente, fueron relacionadas a las entradas de materia orgánica de la cuenca circundante de los lagos. Por otro lado, se pudo identificar condiciones de bajos valores para los proxies que indican producción primaria en Laguna Chica entre 850 y 1050 AD que sugieren alta precipitación y condiciones cálidas coincidente con la

persistencia de eventos parecidos con El Niño entre 650 y 950 AD (Fletcher & Moreno, 2012; Garreaud et al. 2009; Martel-Cea et al. 2016). Igualmente, se pudo confirmar con los valores de las propiedades espectrales en los sedimentos indicando bajos valores de producción primaria (PAPER II) (Montes et al. 2021).

Se han documentado perturbaciones moderadas en las cuencas de Laguna Chica y Grande a mediados del siglo XVI, asociadas con la llegada de los europeos (Aronson et al. 1998; Torrejón y Cisternas, 2002). Nuestros hallazgos indicaron un aumento alrededor de 1536 AD en Laguna Chica para $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$, BSi , radio C/N y $\delta^{13}C$ y variaciones de radio CD/TC, desde 1536 AD en adelante, con posibles condiciones de enriquecimiento moderado de nutrientes y una tendencia hacia la eutrofización progresiva de este lago. Laguna Grande mostró cambios en relación al radio C/N, $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ y el radio CD/TC con un incremento en 1560 AD, posiblemente debido procesos erosivos y al aumento del suministro alóctono de las cuencas hidrográficas causado por el asentamiento español (Aronson et al. 1998; Parra et al. 1989; Torrejón & Cisternas, 2002; Adan et al. 2016), que generó ligeras perturbaciones, pero es posible sean consideradas las primeras intervenciones humanas en ambos lagos (PAPER I y II).

El aumento en la concentración de pigmentos y el cambio en otros indicadores (radio C/N y $\delta^{13}C$), sugiere que la producción primaria del lago aumentó durante las décadas más recientes, lo cual es consistente con un período de altas tasas de sedimentación como lo describe Urrutia et al. (2000) y Cisternas et al. (2001) en la

Laguna Chica de 1951 a 1968 AD, mientras que Cruces et al. (2001), describe el mismo período en la Laguna Grande de 1948 a 1972 AD, que coincidió con un aumento significativo de hidrocarburos, ácidos grasos y materia orgánica. Los cambios dinámicos observados para LGSP como para LCSP podrían estar relacionados con el aumento de la urbanización de las zonas aledañas, y principalmente con la creación de la Villa de San Pedro en 1962 (Parra, 1989) y el aumento de casas de veraneo para actividades turísticas y recreativas en los bancos de LCSP y LGSP (Parra et al. 2003).

En nuestros resultados de LGSP se detectaron valores notables en ~1900 AD para $R_{570/630}$, $R_{660/670}$, $RABD_{660-670}$, $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$, que podrían estar asociados con los efectos mineros de Lota, durante la segunda mitad del siglo XIX, donde se generó la devastación de bosques nativos y se aprovechó para construir túneles y postes para la minería (Astorquiza, 1952; Otero, 2006; Cartés, 2018). De hecho, la deforestación de los bosques nativos en Concepción obligó a la empresa a iniciar las plantaciones de pino y eucalipto en 1895 y desarrollarlas alrededor de 1907, lo que provocó que la deforestación de la cordillera de la costa persistiera hasta fines del siglo XX (Otero, 2006).

Se observaron variaciones en ~1940 AD para el ratio C/N y $\delta^{13}C$ en LCSP; posiblemente esta condición podría estar relacionada con aportes de materia orgánica terrestre, aumentando la productividad en este ecosistema (Reuss et al. 2005; Zhang et al. 2019), condición notoriamente observada en el ratio CD/TC,

feopigmento-a/clorofila-a y radio Tcarotenoide/Tpigmento. Estas variaciones probablemente estén asociadas con un período gradual de alto suministro de sedimentos en LCSP registrado desde 1883 hasta 1948 AD por varios autores, identificados como un período de eutrofización relacionado principalmente con la tala comercial del bosque nativo remanente en la cuenca y su posterior reemplazo por especies exóticas (*Pinus radiata*) (Cisternas et al. 1997; Urrutia et al. 2000; Cisternas et al. 2001; Cisternas y Araneda 2001).

Finalmente, se observó una buena conservación de los pigmentos para Laguna Grande y Laguna Chica debido a la baja proporción de feopigmento-a/clorofila-a, el cual es un indicador de la preservación de los pigmentos en sedimentos lacustres (Reuss et al. 2005; Zhang et al. 2019). Por otro lado, la presencia de pigmentos fósiles específicos a través de la estratigrafía del núcleo de sedimento indicó que las criptofitas, diatomeas, algas verdes y las cianobacterias han sido los grupos representativos de algas en la Laguna Chica, mientras que las cianobacterias mostraron una contribución significativa en comparación con otros grupos de algas durante los últimos 150 años para Laguna Grande, respondiendo al Objetivo 3; PAPER I y II). El cambio más relevante observado en el perfil de contribución porcentual, fue el aumento de cianobacterias alrededor del año 1900 AD. y 1980 AD., como resultado de las actividades antrópicas alrededor de la cuenca y las condiciones ambientales locales (Parra et al.2003; Almanza et al.2016).



CONCLUSIONES

1. Una reconstrucción de la producción primaria basada en análisis multiproxy en Laguna Grande y Laguna Chica de San Pedro proporcionó información esencial sobre los cambios durante los últimos 2500 años para los lagos costeros Mediterráneos y la región centro-sur del país.
2. Los aportes de sedimentos terrígenos derivados de las fluctuaciones hidrológicas y las condiciones naturales se encontraron posiblemente vinculados a cambios en el suministro de sedimentos a escala local en las cuencas, viéndose reflejados alrededor del año 1 AD.



3. Las concentraciones de pigmentos fósiles y los isótopos estables sugieren una mayor producción primaria de fitoplancton en ambos lagos durante las últimas décadas. Estos son probablemente el resultado de las condiciones ambientales locales y las perturbaciones humanas relacionadas con las urbanizaciones, la tala comercial y el reemplazo de bosques nativos. Por lo tanto, es muy necesario establecer un programa de manejo integrado para estas cuencas.
4. Cambios evidenciados a través del análisis de propiedades espectrales, indicadores de producción primaria, isótopos estables y pigmentos, en las cuencas de ambos sistemas lacustres, mostraron la influencia de las

actividades antropogénicas relacionadas con la llegada de los europeos y cambios en el uso del suelo en el último siglo, así como eventos relacionados a condiciones locales dentro de las cuencas.

5. Cambios significativos en la producción primaria para Laguna Chica y Laguna Grande fueron observados a partir de ~1500 AD, posiblemente relacionadas a las primeras perturbaciones humanas asociadas con la llegada de los españoles, mientras que para el año de 1900 AD en Laguna Grande se mostró un cambio notable posiblemente asociado con el cambio en el uso derivados de la actividad minera de Lota. Laguna Chica reflejó un incremento en la producción primaria del ecosistema alrededor de 1940 AD ocasionado por posibles ingresos de materia orgánica derivada de la tala comercial y reemplazo del bosque nativo a partir de esa época.



6. El análisis de ADN ha favorecido la reconstrucción de la evolución histórica y conocer a través del tiempo la adaptación de especies en el pasado. Sin embargo, basado en la experiencia desarrollada en este estudio y de otros autores, no es una técnica de fácil aplicación, ya que se requieren de procedimientos robustos de bioseguridad para la matriz de sedimentos fósiles, además de la implementación del protocolo de extracción de acorde al tipo de sedimento, ya que estos pueden afectar los resultados y por encontrarse expuestos a una serie de factores ambientales, físicos, químicos y biológicos, por lo que es necesario tomar

un mayor número de pruebas para su implementación y obtención de resultados fidedignos.

7. La resolución temporal de los proxies analizados en Laguna Grande y Chica no reflejaron notoriamente cambios esperados de la producción primaria asociados a condiciones cálidas. Sin embargo, evidencias fueron observadas para algunos proxies, como isótopos estables, pigmentos fósiles e inclusive del grupo de las cianobacterias en el período de 950 a 1350 AD (MCA). Por consiguiente, se identificó un ligero incremento de valores alrededor de 1130 y 1260 AD para Laguna Grande y Chica respectivamente, lo que permite aceptar parcialmente la Hipótesis, **si eventos climáticos pasados produjeron condiciones de incremento de temperatura similares a las actuales, entonces durante esos períodos se habría visto favorecido el desarrollo de floraciones de cianobacterias en cuerpos de agua lacustres.**



8. Futuros estudios son requeridos para profundizar estos hallazgos y dejar evidencias que eventos pasados favorecieron condiciones propicias para encontrar incrementos de la producción primaria e incidencias de floraciones de microalgas, principalmente de cianobacterias.

GLOSARIO

1. **Anomalía Cálida Medieval:** es un período reconocido de cambio climático preindustrial asociado con una temperatura marcada y una variabilidad hidroclimática en diversas partes del mundo. Generalmente se acepta que el período central de la ACM o MCA (por sus siglas en inglés) abarca de los 1000-1200 AD y representa la fase cálida natural más reciente, proporcionando información de contexto crucial para nuestro período cálido actual y su proceso de calentamiento.
2. **Cambio climático:** son cambios a largo plazo en las temperaturas y los patrones climáticos, los cuales pueden ser naturales a través por ejemplo de las variaciones en el ciclo solar. Sin embargo, a partir de 1800, las actividades humanas han sido el principal impulsor del cambio climático, principalmente debido a la quema de combustibles fósiles como el carbón, el petróleo y el gas.
3. **Cianobacterias:** son organismos que componen parte del fitoplancton de los ecosistemas acuáticos, son fotosintéticos, tienen la capacidad de producir su propio alimento y son de gran importancia a nivel taxonómico, en la productividad de los ecosistemas y el impacto en la salud humana. Generalmente son unicelulares y a menudo crecen en colonias formando floraciones y son conocidos como algas verde azules.
4. **Eutroficación:** crecimiento excesivo de plantas y algas debido a la mayor disponibilidad de uno o más factores limitantes (nitrógeno y fósforo). Este fenómeno puede ocurrir de manera natural durante siglos, a medida que los lagos envejecen. No obstante, las actividades antropogénicas han incrementado y acelerado las tasas y el alcance de la eutrofización a través de descargas de fuentes puntuales y no puntuales, afectando los ecosistemas y la salud humana.
5. **Floraciones algales:** proliferación rápida y excesiva de algas acompañado con elevados niveles de nutrientes y otras condiciones favorables. Las floraciones pueden conducir la muerte de organismos y afectar las características físicas, químicas y biológicas de los sistemas acuáticos.
6. **Holoceno:** división de escala temporal, geológica y es considerada la última época del período cuaternario, que dió inicio después de la última glaciación. Este período cubre aproximadamente los últimos 11.700 años de la historia de la tierra, por lo tanto, abarca la mayor parte del desarrollo de la humanidad. Se caracterizó por un aumento en el nivel del mar y donde se produjeron importantes cambios en el ambiente.
7. **Núcleo sedimentario:** es un tipo de muestra que captura las capas estratigráficas de la profundidad de los ecosistemas acuáticos. Los sedimentos

más jóvenes, se encuentran en la parte superior y los antiguos en la parte inferior. Su importancia radica en la reconstrucción del pasado ambiental de los ecosistemas acuáticos.

8. **Paleolimnología:** ciencia multidisciplinar que utiliza información de variables físicas, químicas y biológicas procedentes de los sedimentos para reconstruir las condiciones ambientales pasadas de los sistemas acuáticos.
9. **Pequeña Edad (Era) de Hielo:** Período de enfriamiento regional, particularmente pronunciado en la región del Atlántico Norte y que ocurrió después del período cálido medieval. Se extiende aproximadamente desde 1500 hasta 1850 AD, durante el cual las temperaturas medias del hemisferio norte fueron considerablemente más bajas que las actuales, ejerció efectos sobre el clima de América del sur.
10. **Pigmentos fotosintéticos:** son moléculas que tienen la capacidad de absorber la radiación electromagnética, transfieren la energía de los fotones absorbidos al centro de reacción y de la conversión fotoquímica en los sistemas fotosintéticos con la finalidad de transformar la energía solar en energía química. Los pigmentos están presentes en todos los organismos fotosintéticos y funcionan como agentes captadores de luz.
11. **Pigmentos sedimentarios:** composición de los pigmentos de origen vegetal depositados en los sedimentos a través de la cuenca hidrográfica, ya sean producidos de manera autóctona o alóctona. Son considerados valiosos indicadores de la producción primaria y de cambios ecológicos en ecosistemas acuáticos.
12. **Pigmentos Fósiles:** se refiere a pigmentos orgánicos de propiedades bien definidas en depósitos naturales de miles de años de antigüedad. Solo una fracción de la producción fototrófica de la columna de agua finalmente termina en la superficie del sedimento y se incorpora al registro fósil por lo cual resultan útiles para investigaciones e interpretaciones paleoecológicas o paleoambientales.
13. **Proxies:** en algunas disciplinas científicas resulta necesario estudiar variables que no se pueden medir directamente. Esto se puede hacer a través de análisis proxy o métodos proxy, en los que se mide una variable que se correlaciona con la variable de interés y luego se usa para inferir el valor de la variable de interés.
14. **Registro sedimentario:** proceso de acumulación gradual de nutrientes, partículas o restos de organismos, de manera natural o antropogénico, generando una deposición paulatina de los sedimentos provenientes de la cuenca de drenaje.



15. **Calentamiento Global:** se refiere al calentamiento a largo plazo de la superficie de la tierra observado desde el período preindustrial (entre 1850 y 1900 AD) debido a las actividades humanas, principalmente relacionado a la quema de combustibles fósiles, lo que incrementa los gases de efecto de invernadero que atrapan el calor en la atmosfera terrestre.
16. **El Niño, Oscilación del Sur (ENSO):** corresponde a un evento climático natural que se desarrolla en el Océano Pacífico ecuatorial central, la fase cálida de ENOS conocida como El Niño se manifiesta, principalmente por un aumento de la Temperatura Superficial del Mar (TSM) y una disminución de los vientos alisios en el lado de este del océano Pacífico, generando fuertes precipitaciones y cambios notables en el clima y las pesquerías.
17. **La Niña:** es la fase inversa o fría de ENOS y se caracteriza por presentar Temperatura Superficial del Mar (TSM) más fría que lo normal, intensificación de los vientos alisios en el este del océano Pacífico y períodos de sequía.



REFERENCIAS

- Adán, L.; Rodrigo, M.; Navarro, X.; Campbell, R.; Quiroz, D.; Sánchez, M. Historia prehistórica de la región Centro-Sur de Chile: cazadores-recolectores holocénicos y comunidades alfareras (ca. 10.000 años a.C. a 1.550 años d.C.). In *Prehistoria en Chile: desde sus primeros habitantes hasta los Incas*; Falabella, F.; Uribe, M.; Sanhueza, L., Aldunate, C.; Hidalgo, J. Eds. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, 2016; pp. 401-441
- Ahmad, K.; Davies, C. Stable isotope (d13C and d15N) based interpretation of organic matter source and paleoenvironmental conditions in Al-Azraq basin, Jordan. *J. Appl. Geochem* **2017**, 78, 49
60. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2016.12.004>
- Almanza V, Parra O, Bicudo DM, et al. (2016) Floraciones de fitoplancton y variación de la estructura comunitaria fitoplanctónica en tres lagos someros eutróficos de Chile Central. *Gayana Botánica* 73(2):191-205.
<https://doi.org/10.4067/S0717-66432016000200191>
- Amann, B.; Lobsiger, S.; Fischer, F.; Tylmann, W.; Bonk, A.; Filipiak, J.; Grosjean, M. Spring temperature variability and eutrophication history inferred from sedimentary pigments in the varved sediments of Lake Żabińskie, north-eastern Poland, AD 1907–2008. *Glob. Planet. Change*, **2014** 123, 86-96.
<https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2014.10.008>
- Anderson, J. Minireview. (2000). Diatoms, temperature and climatic change. *Eur. J. Phycol.* (35) 4, 307-314. <https://doi.org/10.1080/09670260010001735911>
- Anderson-Carpenter, L. L., McLachlan, J. S., Jackson, S. T., Kuch, M., Lumibao, C. Y., & Poinar, H. N. (2011). Ancient DNA from lake sediments: bridging the gap between paleoecology and genetics. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 30. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-30>
- Apaéstegui, J., Cruz, F. W., Sifeddine, A., Vuille, M., Espinoza, J. C., Guyot, J. L., Khodri, M., Strikis, N., Santos, R. V., Cheng, H., Edwards, L., Carvalho, E., & Santini, W. (2014). Hydroclimate variability of the northwestern Amazon Basin near the Andean foothills of Peru related to the South American Monsoon System during the last 1600 years. *Climate of the Past*, 10(6), 1967–1981.
<https://doi.org/10.5194/cp-10-1967-2014>
- Apolinarska, K., Pleskot, K., Pelechata, A., Migdalek, M., Siepak, M., & Pelechaty, M. (2020). The recent deposition of laminated sediments in highly eutrophic Lake Kierskie, western Poland: 1 year pilot study of limnological monitoring

and sediment traps. *Journal of Paleolimnology*, 63(4), 283–304.
<https://doi.org/10.1007/s10933-020-00116-2>

Arnell, N.; Halliday, S.; Battarbee, R.; Skeffington, R.; Wade, A. (2015). The implications of climate change for the water environment in England. *Prog Phys Geogr*. 39(1), 93-120. <https://doi.org/10.1177/0309133314560369>

Arnold, T. E., Brenner, M., Kenney, W. F., & Bianchi, T. S. (2019). Recent trophic state changes of selected Florida lakes inferred from bulk sediment geochemical variables and biomarkers. *Journal of Paleolimnology*, 62(4), 409–423. <https://doi.org/10.1007/s10933-019-00096-y>

Aronson, J.; Del Pozo, A.; Ovalle, C.; Avendaño, J.; Lavin, A.; Etienne, M. Land Use Changes and Conflicts in Central Chile. In *Landscape Disturbance and Biodiversity in Mediterranean-Type Ecosystems*; Rundel, P.W.; Montenegro, R.G.; Jaksic, F.M. Eds.; Ecological Studies, Berlin, 1998, pp. 155–168.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-03543-6>

Astorquiza, O.; Galleguillos, O. (1952). Cien años del carbón de Lota 1852-1952. Cia Carbonifera e Industrial de Lota. Lota, Santiago de Chile.

Baker, P. A., Fritz, S. C., Burns, S. J., Ekdahl, E., & Rigsby, C. A. (2009). The nature and origin of decadal to millennial scale climate variability in the southern tropics of south America: The Holocene record of Lago umayo, Peru. En *Past Climate Variability in South America and Surrounding Regions* (pp. 301–322). Springer Netherlands.

Barra, R., Pozo, K., Roberto, U., Cisternas, M., Pacheco, P., & Focardi, S. (2001). Plaguicidas organoclorados persistentes en sedimentos DE Tres Lagos costeros y Un Lago Andino DE Chile central. *Boletín de La Sociedad Chilena de Química*, 46(2). <https://doi.org/10.4067/s0366-16442001000200008>

Bates D, Chambers J, Dalgaard P, Falcon S, Gentleman R (2009) R Development Core Team. R: a language and environment for statistical computing. 2009.

Bates, B.; Kundzewicz, Z.; Wu, S.; Palutikof, J. (2008). Climate Change and Water. Technical Paper of the Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC. *Secretariat, Geneva*. 210.

Battarbee, R. 2000. Palaeolimnological approaches to climate change, with special regard to the biological record. *Quaternary Science Reviews*, 19:107-124.

- Bellinger, E. y D. Sigeo. 2010. Freshwater algae: identification and use as bioindicators. Wiley-Blackwell. Chichester.U.K.
- Bertrand, S.; Boës, X.; Castiaux, J.; Charlet, F.; Urrutia, R.; Espinoza, C.; [Lepoint, G.](#); [Charlier, B.](#); Fagel, N. Temporal evolution of sediment supply in Lago Puyehue (Southern Chile) during the last 600 yr and its climatic significance. *Quat. Res.* **2005**, 64(2), 163–175. <https://doi.org/10.1016/j.ygres.2005.06.005>
- Bertrand, S.; Charlet, F.; Charlier, B.; Renson, V.; Fagel, N. Climate variability of southern Chile since the Last Glacial Maximum: a continuous sedimentological record from Lago Puyehue (40°S). *J. Paleolimnol* **2008**, 39(2), 179–195. <https://doi.org/10.1007/s10933-007-9117-y>
- Bhagowati, B., & Ahamad, K. U. (2019). A review on lake eutrophication dynamics and recent developments in lake modeling. *International Journal of Ecohydrology & Hydrobiology*, 19(1), 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.ecohyd.2018.03.002>
- Bianchi, T.S.; Canuel, E.A. Chemical biomarkers in aquatic ecosystems. Princeton University Press, Princeton. 2011, 392. <https://doi.org/10.1515/9781400839100>.
- Bird, B. W., Abbott, M. B., Vuille, M., Rodbell, D. T., Stansell, N. D., & Rosenmeier, M. F. (2011). A 2,300-year-long annually resolved record of the South American summer monsoon from the Peruvian Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(21), 8583–8588. <https://doi.org/10.1073/pnas.1003719108>
- Birks, H.H.; Birks, H.J.B. Multi-proxy studies in palaeolimnology. *Veg Hist Archaeobot.* **2006**, 15, 235–251. <https://doi.org/10.1007/s00334-006-0066-6>
- Blaauw M (2010) Methods and code for ‘classical’ age-modelling of radiocarbon sequences. *quaternary geochronology* 5(5):512-518 <https://doi.org/10.1016/j.quageo.2010.01.002>
- Blanchet, G.; Legendre, P.; Borcard, D. (2008). Forward selection of spatial explanatory variables. *Ecology*, 89(9), 2623–2632. <https://doi.org/10.1890/07-0986.1>
- Blois, J. L., Zarnetske, P. L., Fitzpatrick, M. C., & Finnegan, S. (2013). Climate change and the past, present, and future of biotic interactions. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6145), 499–504. <https://doi.org/10.1126/science.1237184>

- Blott, S.; Pye, K. Gradstat: a grain size distribution and statistics package for analysis of unconsolidated sediments. *Earth Surf. Process. Landf.* **2001**, *26*, 1237–1248. <https://doi.org/10.1002/esp.261>
- Boere, A. C., Rijpstra, W. I., De Lange, G. J., Sinninghe Damsté, J. S., & Coolen, M. J. (2011). Preservation potential of ancient plankton DNA in Pleistocene marine sediments. *Geobiology*, *9*(5), 377–393. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2011.00290.x>
- Boere, A., J. Sinninghe, W. Rijpstra, J. Volkman, M. Coolen. (2011). Source-specific variability in post-depositional DNA preservation with potential implications for DNA based paleoecological records. *Organic Geochemistry*, *42*: 1216–1225.
- Bosmans, J. H. C., Drijfhout, S. S., Tuenter, E., Lourens, L. J., Hilgen, F. J., & Weber, S. L. (2012). Monsoonal response to mid-holocene orbital forcing in a high resolution GCM. *Climate of the Past*, *8*(2), 723–740. <https://doi.org/10.5194/cp-8-723-2012>
- Boutte, C., S. Grubisic, P. Balthasart, A. Wilmotte. 2006. Testing of primers for the study of cyanobacterial molecular diversity by DGGE. *Journal of Microbiological Methods*, *65*: 542– 550.
- Bradley, R. (2000). 1000 years of climate change. *Science (New York, N.Y.)*, *288*(5470), 1353–1355. <https://doi.org/10.1126/science.288.5470.1353>
- Bradley, R. S., Hughes, M. K., & Diaz, H. F. (2003). Climate change. *Climate in Medieval time. Science (New York, N.Y.)*, *302*(5644), 404–405. <https://doi.org/10.1126/science.1090372>
- Brito, A., V. Brotas, M. Caetano, T. Coutinho, A. Bordalo, J. Icely, J. Neto, J. Serôdio y T. Moita. (2012). Defining phytoplankton class boundaries in Portuguese transitional waters: An evaluation of the ecological quality status according to the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, *19*: 5-14.
- Bronk Ramsey, C. OxCal program version 3.10; manual. <https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal3/oxcal.htm>. Oxford Radiocarbon Accelerator Unit: Oxford, UK, **2005**.
- Burford, M. A., Carey, C. C., Hamilton, D. P., Huisman, J., Paerl, H. W., Wood, S. A., & Wulff, A. (2020). Perspective: Advancing the research agenda for improving understanding of cyanobacteria in a future of global change. *Harmful Algae*, *91*(101601), 101601. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.04.004>

Burns, S. J., Welsh, L. K., Scroxton, N., Cheng, H., & Edwards, R. L. (2019). Millennial and orbital scale variability of the South American Monsoon during the penultimate glacial period. *Scientific Reports*, 9(1), 1234. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37854-3>

Busalacchi, A. J. (2004). The role of the Southern Ocean in global processes: an earth system science approach. *Antarctic Science*, 16(4), 363–368. <https://doi.org/10.1017/s0954102004002196>

Cabecinha, E., R. Cortes, J. Cabral, T. Ferreira, M. Lourenço y M. Pardal. 2009. Multi-scale approach using phytoplankton as a first step towards the definition of the ecological status of reservoirs. *Ecological Indicators*, 9: 240-255.

Cankilic, Y., Berk, M. (2016). Analysis of cyanobacterial diversity of some Hot Springs in afyonkarahisar, turkey. *Applied ecology and environmental research*, 14(2), 463–484. https://doi.org/10.15666/aeer/1402_463484

Capo E, Debroas D, Arnaud F, et al. (2016) Long-term dynamics in microbial eukaryotes communities: A palaeolimnological view based on sedimentary DNA. *Molecular Ecology* 25(23):5925-5943

Capo E, Debroas D, Arnaud F, Perga ME, Chardon C, Domaizon I (2017) Tracking a century of changes in microbial eukaryotic diversity in lakes driven by nutrient enrichment and climate warming. *Environmental microbiology* 19(7):2873-2892



Carey, C.; Ibelings, B.; Hoffmann, E.; Hamilton, D.; Brookes, J. (2012). Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Res.* (46), 1397-1407. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.016>

Cartes, A. (2019). “La Ciudad Del Hollín”. Desarrollo Industrial Y Deterioro Ambiental En La Cuenca Del Carbón”. *Historia* 396, 8(2), 27–53.

Castillo, A., Valdés, J., Sifeddine, A., Reyss, J.-L., Bouloubassi, I., & Ortlieb, L. (2017). Changes in biological productivity and ocean-climatic fluctuations during the last ~ 1.5 kyr in the Humboldt ecosystem off northern Chile (27°S): A multiproxy approach. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 485, 798–815. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2017.07.038>

- Chen Y, Li P, Huang Y, et al. (2019) Environmental media exert a bottleneck in driving the dynamics of antibiotic resistance genes in modern aquatic environment. *Water research* 162:127-138
- Chen, G., L. Zhao, Y. Qi. 2015. Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: A critical review. *Applied Energy*, 137: 282-291.
- Chirinos L, Rose N, Urrutia R, et al. (2006) Environmental evidence of fossil fuel pollution in Laguna Chica de San Pedro lake sediments (Central Chile). *Environmental Pollution* 141(2):247-256
- Chirinos, L.; Rose, N.L.; Urrutia, R.; Muñoz, P.; Torrejón, F.; Torres, L.; Cruces, F.; Araneda, A.; Zaror, C. (2006). Environmental evidence of fossil fuel pollution in Laguna Chica de San Pedro lake sediments (Central Chile). *Environ Pollut.*, 141, 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.049>
- Cisternas, M. y F. Torrejón. (2002). Cambios de uso del suelo, actividades agropecuarias e intervención ambiental temprana en una localidad fronteriza de la Araucanía (S. XVI- XIX). *Revista Geografía de Norte Grande*, 29: 83-94.
- Cisternas, M., A. Araneda, P. Martínez y S. Pérez. 2001. Effects of historical land use on sediment yield from lacustrine watershed in central Chile. *Earth Surface Processes and Landforms*, 26: 63–76.
- Cisternas, M., L. Torres, R. Urrutia, A. Araneda y O. Parra. (2000). Comparación ambiental, mediante registros sedimentarios, entre las condiciones prehispánicas y actuales de un sistema lacustre. *Revista Chilena de Historia Natural*, 75: 151-162.
- Cisternas, M.; Araneda, A.; Martínez, P.; Pérez, S. (2001). Effects of historical land use on sediment yield from a lacustrine watershed in central Chile. *Earth Surf. Process. Landf.*, 26, 63–76. [https://doi.org/10.1002/1096-9837\(200101\)26:1<63::AID-ESP157>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1096-9837(200101)26:1<63::AID-ESP157>3.0.CO;2-J)
- Cisternas, M.; Araneda, A.; Retamal, O.; Urrutia, R. (1997). Sedimentos como indicadores de eventos erosivos en una pequeña cuenca lacustre de Chile Central. *Espacio y Desarrollo*. 9, 103–116.
- Cisternas, M.; Torres, L.; Urrutia, R.; Araneda, A.; Parra, O. (2000). Comparación Ambiental, mediante registros sedimentarios, entre condiciones prehispánicas y actuales. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 73, 151–162. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000100014>

Cisternas, Vega M (2002) Cambios de uso del suelo, actividades agropecuarias e intervención ambiental temprana en una localidad fronteriza de la Araucanía (S. XVI-XIX).

Cisternas-Vega, M.; Torrejón-Godoy, F. (2002). Cambios de Uso del Suelo, Actividades Agropecuarias e Intervención Ambiental Temprana en una Localidad fronteriza de la Araucanía (S. XVI-XIX). *REV GEOGR NORTE GD*, 29, 83–94.

Coolen, M. J. L., & Gibson, J. A. E. (2009). Ancient DNA in lake sediment records. *Pages (Bern)*, 17(3), 104–106. <https://doi.org/10.22498/pages.17.3.104>

Cottingham, K. L., Weathers, K. C., Ewing, H. A., Greer, M. L., & Carey, C. C. (2021). Predicting the effects of climate change on freshwater cyanobacterial blooms requires consideration of the complete cyanobacterial life cycle. *Journal of Plankton Research*, 43(1), 10–19. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbaa059>

Cruces F, Urrutia R, Araneda A, Torres L, Cisternas M, Vyverman W (2001) Evolución trófica de Laguna Grande de San Pedro (VIII Región, Chile) durante el último siglo, mediante el análisis de registros sedimentarios. *Revista chilena de historia natural* 74(2):407-418. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2001000200015>

Cuddington, K.; Leavitt, P.R. (1999). An individual-based model of pigment flux in lakes: implications for organic biogeochemistry and paleoecology. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 56, 1964–1977. DOI: [10.1139/f99-108](https://doi.org/10.1139/f99-108)

Das, B. (2007). Reconstruction of historical productivity using visible-near-infrared (VNIR) reflectance properties from boreal and saline lake sediments. *Aquat Ecol*, 41, 209–220 <https://doi.org/10.1007/s10452-006-9071-1>

De Senerpont Domis, L.; Mooij, W.; Huisman, J. (2007). Climate-induced shifts in an experimental phytoplankton community: a mechanistic approach. *Hydrobiol. J.* 584:403–413. <https://doi.org/s10750-007-0609-6>

Demoulin, C. F., Lara, Y. J., Cornet, L., François, C., Baurain, D., Wilmotte, A., & Javaux, E. J. (2019). Cyanobacteria evolution: Insight from the fossil record. *Free Radical Biology & Medicine*, 140, 206–223. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.007>

- Dervaux, J., A. Mejean y P. Brunet. 2015. Irreversible Collective Migration of Cyanobacteria in Eutrophic Conditions. *PlosOne*, 10(3): e0120906.
- Deshpande, B.N.; Tremblay, R.; Pienitz, R.; Vincent, W.F. Sedimentary pigments as indicators of cyanobacterial dynamics in a hypereutrophic lake. *J. Paleolimnol* **2014**, 52(3), 171–184. <https://doi.org/10.1007/s10933-014-9785-3>
- Dobry, R.; Poblete, M. Densidades máximas y mínimas de las arenas Bio-Bio. *Revista IDIEM*, **1966**, 5(3), 151-159. Available: <https://revistaidiem.uchile.cl/index.php/RIDIEM/article/view/38465>
- Dolman, A., J. Ru, F. Pick, J. Fastner, T. Rohrlack, U. Mischke y C. Wiedner. 2012. Cyanobacteria and Cyanotoxins: The Influence of Nitrogen versus Phosphorus. *Plos One* 7(6): e38757.
- Domaizon I, Savichtcheva O, Debroas D, et al. (2013) DNA from lake sediments reveals the long-term dynamics and diversity of *Synechococcus* assemblages. *Biogeosciences* 10(6):3817-3838 . DOI: [10.5194 / bg-10-3817-2013](https://doi.org/10.5194/bg-10-3817-2013)
- Domaizon, I., Winegardner, A., Capo, E., Gauthier, J., & Gregory-Eaves, I. (2017). DNA-based methods in paleolimnology: new opportunities for investigating long-term dynamics of lacustrine biodiversity. *Journal of Paleolimnology*, 58(1), 1–21. <https://doi.org/10.1007/s10933-017-9958-y>
- Dusseix, N., Bergfeldt, N., de Anca Prado, V., Dehasque, M., Díez-Del-Molino, D., Ersmark, E., Kanellidou, F., Larsson, P., Lemež, Š., Lord, E., Mármol-Sánchez, E., Meleg, I. N., Måsviken, J., Naidoo, T., Studerus, J., Vicente, M., von Seth, J., Götherström, A., Dalén, L., & Heintzman, P. D. (2021). Integrating multi-taxon palaeogenomes and sedimentary ancient DNA to study past ecosystem dynamics. *Proceedings. Biological Sciences*, 288(1957), 20211252. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1252>
- Ellegaard, M., Clokie, M., Czepionka, T., Frisch, D., Godhe, A., Kremp, A., Letarov, A., McGenity, T. J., Ribeiro, S., & John Anderson, N. (2020). Dead or alive: sediment DNA archives as tools for tracking aquatic evolution and adaptation. *Communications biology*, 3(1), 169. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0899-z>
- Elliott, J. 2012. Is the future blue-green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. *Water Research*, 46: 1364-1371.

- Epp, L. S., Zimmermann, H. H., & Stouff-Leichsenring, K. R. (2019). Sampling and extraction of ancient DNA from sediments. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1963, 31–44. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9176-1_5
- Erratt, K., Creed, I. F., Favot, E. J., Todoran, I., Tai, V., Smol, J. P., & Trick, C. G. (2022). Paleolimnological evidence reveals climate-related preeminence of cyanobacteria in a temperate meromictic lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 79(4), 558–565. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2021-0095>
- Fagel, N.; Bertrand, S.; Mattielli, N.; Gilson, D.; Chirinos, L.; Lepoint, G.; Urrutia, R. (2010). Geochemical evidence (C, N and Pb isotopes) of recent anthropogenic impact in south-central Chile from two environmentally distinct lake sediment records. *J. Quat. Sci.*, 25(7), 1100–1112. <https://doi.org/10.1002/jqs>
- Favot, E. J., Rühland, K. M., DeSellas, A. M., Ingram, R., Paterson, A. M., & Smol, J. P. (2019). Climate variability promotes unprecedented cyanobacterial blooms in a remote, oligotrophic Ontario lake: evidence from paleolimnology. *Journal of Paleolimnology*, 62(1), 31–52. <https://doi.org/10.1007/s10933-019-00074-4>
- Fernandez-Carazo, R., Hodgson, D. A., Convey, P., & Willemotte, A. (2011). Low cyanobacterial diversity in biotopes of the Transantarctic Mountains and Shackleton Range (80–82°S), Antarctica. *FEMS microbiology ecology*, 77(3), 503–517. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01132.x>
- Fernández-Carazo, R., Verleyen, E., Hodgson, D.A., Roberts, S.J., Waleron, K.F., Vyverman, W., & Willemotte, A. (2013). Late Holocene changes in cyanobacterial community structure in maritime Antarctic lakes. *Journal of Paleolimnology*, 50, 15–31. DOI:[10.1007/s10933-013-9700-3](https://doi.org/10.1007/s10933-013-9700-3)
- Ficetola GF, Poulenard J, Sabatier P, et al. (2018) DNA from lake sediments reveals long-term ecosystem changes after a biological invasion. *Science Advances* 4(5):eaar4292
- Flantua, S. G. A., Hooghiemstra, H., Vuille, M., Behling, H., Carson, J. F., Gosling, W. D., Hoyos, I., Ledru, M. P., Montoya, E., Mayle, F., Maldonado, A., Rull, V., Tonello, M. S., Whitney, B. S., & González-Arango, C. (2016). Climate variability and human impact in South America during the last 2000 years: synthesis and perspectives from pollen records. *Climate of the Past*, 12(2), 483–523. <https://doi.org/10.5194/cp-12-483-2016>

- Fletcher, M.S.; & Moreno, P. I. Vegetation, climate and fire regime changes in the Andean region of southern Chile (38°S) covaried with centennial-scale climate anomalies in the tropical Pacific over the last 1500 years. *Quat. Sci. Rev.* **2012**, 46, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2012.04.016>
- Freudenthal, T.; Wagner, T.; Wenzhofer, F.; Zabel, M.; Wefer, G. Early diagenesis of organic matter from sediments of the eastern subtropical Atlantic: Evidence from stable nitrogen and carbon isotopes. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2001**, 65, 1795–1808. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00554-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00554-3)
- Frugone-Álvarez, M.; Latorre, C.; Giralt, S.; Polanco-Martínez, J.; Bernárdez, P.; Oliva-urcia, B.; Maldonado, A.; Carrevedo, M.L.; Moreno, A.; Delgado, A.; Prego, R.; Barreiro-Lostres, F.; Valero-Garcés, B. A 7000-year high-resolution lake sediment record from coastal central Chile (Lago Vichuquen, 34 °S): implications for past sea level and environmental variability. *J. Quat. Sci.* **2017**, 32(6), 830–844. <https://doi.org/10.1002/jqs.2936>
- Fuentealba, C.; Henriquez, O. Rol de las poblaciones de *Diplodon chilensis* (Gray, 1828) (Bivalvia: HYRIIDAE) en el estado trófico de la Laguna Chica de San Pedro (Chile). *Comun Soc Malacol Urug* **2009**, 9(92), 195–200. Available online: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=52414008003> (Accesed on 14 september 2019).
- Gamberini, V. C., Ruiz, C. H., & Morales, C. B. (2019). Aportes y desafíos del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA) a la conservación de la biodiversidad en Chile. *Investigaciones geográficas*, 72, 9–29. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7170560>
- García, Y. y J. Martínez. 2009. El período cálido medieval y la pequeña edad de hielo en el neotrópico. *Ciencias de la Tierra*, 33: 477-489.
- Gregory-Eaves, I.; Beisner, B. Palaeolimnological insights for biodiversity science: an emerging field. *Freshw. Biol.* **2011**, 56, 2653–2661.
- Grimm, E. C. (1987). CONISS: a FORTRAN 77 program for stratigraphically constrained cluster analysis by the method of incremental sum of squares. *Computers & Geosciences*, 13(1), 13–35. [https://doi.org/10.1016/0098-3004\(87\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0098-3004(87)90022-7)
- Gu, B.; Schelske, C.L.; Brenner, M. Relationship between sediment and plankton isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) and primary productivity in Florida lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1996**, 53(4), 875–883. <https://doi.org/10.1139/f95-248>
- Guiry, E. (2019). Complexities of Stable Carbon and Nitrogen Isotope Biogeochemistry in Ancient Freshwater Ecosystems: Implications for the



Study of Past Subsistence and Environmental Change. *Front. Ecol. Evol.* (7) 24. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00313>

Gushulak, C. A. C., Leavitt, P. R., & Cumming, B. F. (2021). Basin-specific records of lake oligotrophication during the middle-to-late Holocene in boreal northeast Ontario, Canada. *The Holocene*, 31(10), 1539–1554. <https://doi.org/10.1177/09596836211025972>

Guzmán, M. (2021). Los cambios en la expansión urbana y su relación con el estado trófico de Laguna Grande y Laguna Chica de San Pedro de la Paz en los últimos 30 años. Tesis Pregrado, Universidad de Concepción. Repositorio Bibliotecas Universidad de Concepción. <http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/9241/1/TESIS%20LOS%20CAMBIOS%20EN%20LA%20EXPANSION%20URBANA.pdf>

Hakanson, L.; Jansson, M. Principles of lake sedimentology. Springer-Verlag. Berlin. 1983, 330. <https://doi.org/10.1002/iroh.19850700318>

Harris, P. P., Huntingford, C., & Cox, P. M. (2008). Amazon Basin climate under global warming: the role of the sea surface temperature. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 363(1498), 1753–1759. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.0037>

Hassan, K.M.; Swinehart, J.B.; Spalding, R.F. (1997). Evidence for Holocene environmental change from C/N ratios, and ^{13}C and ^{15}N values in Swan Lake sediments, western Sand Hills, Nebraska. *J. Paleolimnol*, 18, 121–130. <https://doi.org/10.1023/A:1007393329040>

Hausmann, S. Pienitz, R. (2007). Seasonal climate inferences from high-resolution modern diatom data along a climate gradient: a case study. *J Paleolimnol.* 38:73–96. <https://doi.org/10.1007/s10933-006-9061-2>

Henao, E., Rzymiski, P., & Waters, M. N. (2019). A review on the study of cyanotoxins in paleolimnological research: Current knowledge and future needs. *Toxins*, 12(1), 6. <https://doi.org/10.3390/toxins12010006>

Ho, J. C., Michalak, A. M., & Pahlevan, N. (2019). Widespread global increase in intense lake phytoplankton blooms since the 1980s. *Nature*, 574(7780), 667–670. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1648-7>

Hogg, A.G.; Hua, Q.; Blackwell, P. G.; Niu, M.; Buck, C.E.; Guilderson, T.P.; Heaton, T.J.; Palmer, J.G.; Reimer, P.J.; Reimer, R.W.; Turney, C.S.M.; Zimmerman, S.R.H. SHCAL (2013). Southern hemisphere calibration 0-

50,000 years cal. *Radiocarbon*, 55,4,1889-1903.
https://doi.org/10.2458/azu_js_rc.55.16783

Huo, S., Zhang, H., Ma, C., Xi, B., Zhang, J., He, Z., Li, X., & Wu, F. (2019). Algae community response to climate change and nutrient loading recorded by sedimentary phytoplankton pigments in the Changtan Reservoir, China. *Journal of Hydrology*, 571, 311–321.
<https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2019.02.005>

IPCC. (2014). Cambio climático 2014: impactos, adaptación y vulnerabilidad – Resumen para responsables de políticas. Contribución del Grupo de trabajo II al quinto informe de evaluación del grupo intergubernamental de expertos sobre el Cambio Climático. Organización Meteorológica Mundial. Ginebra.

Isla FI, Flory JQ, Martínez C, Fernández A, Jaque E (2012) The evolution of the Bío Bío delta and the coastal plains of the Arauco Gulf, Bío Bío Region: the Holocene sea-level curve of Chile. *Journal of Coastal Research* 28(1):102-111

Jenny, B.; Valero-Garcés, B. L.; Urrutia, R.; Kelts, K.; Veit, H.; Appleby, P.G.; Geyh, M. (2002). Moisture changes and fluctuations of the Westerlies in Mediterranean Central Chile during the last 2000 years: The Laguna Aculeo record (33°50'S). *Quatern Int.*, 87, 3–18. [https://doi.org/10.1016/S1040-6182\(01\)00058-1](https://doi.org/10.1016/S1040-6182(01)00058-1)

Jenny, B.; Valero-Garcés, B.; Villa-Martínez, R.; Urrutia, R.; Geyh, M.; Veit, H. (2002). Early to Mid-Holocene Aridity in Central Chile and the Southern Westerlies: The Laguna Aculeo Record (34 ° S). *Quat. Res.*, 58, 160–170.
<https://doi.org/10.1006/qres.2002.2376>

Jeppensen, E.; Meerhoff, M.; Davinson, T.; Trolle, D.; Sondergaard, M.; Lauridsen, T.; Beklioglu, M.; Brucer, S.; González-Bergonzini, I.; Nielsen, A. (2014). Climate change impacts on lakes: an integrated ecological perspective based on a multi-faceted approach, with special focus on shallow lakes.. *J. Limnol.* 73 (sl) 84-107 <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2014.844>

Jiménez, L., Romero-Viana, L., Conde-Porcuna, J. M., & Pérez-Martínez, C. (2015). Sedimentary photosynthetic pigments as indicators of climate and watershed perturbations in an alpine lake in southern Spain. *Limnetica*, 34, 439–454. <https://doi.org/10.23818/limn.34.33>

Jones, P. D., & Mann, M. E. (2004). Climate over past millennia: Climate over past Millennia. *Reviews of Geophysics (Washington, D.C.: 1985)*, 42(2).
<https://doi.org/10.1029/2003rg000143>

Jones, P. D., Briffa, K. R., Osborn, T. J., Lough, J. M., van Ommen, T. D., Vinther, B. M., Luterbacher, J., Wahl, E. R., Zwiars, F. W., Mann, M. E., Schmidt, G. A., Ammann, C. M., Buckley, B. M., Cobb, K. M., Esper, J., Goosse, H., Graham, N., Jansen, E., Kiefer, T., ... Xoplaki, E. (2009). High-resolution palaeoclimatology of the last millennium: a review of current status and future prospects. *The Holocene*, 19(1), 3–49.
<https://doi.org/10.1177/0959683608098952>

Juggins, S. (2020). *rioja: Analysis of Quaternary Science Data*. <https://cran.r-project.org/package=rioja>

Kardinaal, W. E. A., Janse, I., Kamst-van Agterveld, M., Meima, M., Snoek, J., Mur, L. R., Huisman, J., Zwart, G., & Visser, P. (2007). Microcystis genotype succession in relation to microcystin concentrations in freshwater lakes. *Aquatic microbial ecology: international journal*, 48(1), 1–12.
<https://doi.org/10.3354/ame048001>

Karlsson, I. B., Sonnenborg, T. O., Refsgaard, J. C., Trolle, D., Børgesen, C. D., Olesen, J. E., Jeppesen, E., & Jensen, K. H. (2016). Combined effects of climate models, hydrological model structures and land use scenarios on hydrological impacts of climate change. *Journal of Hydrology*, 535, 301–317.
<https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2016.01.069>

Khan, F. A., & Ansari, A. A. (2005). Eutrophication: An ecological vision. *The Botanical Review; Interpreting Botanical Progress*, 71(4), 449–482.
[https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2005\)071\[0449:eaev\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2005)071[0449:eaev]2.0.co;2)

Kies, F., De, P., Rios-Escalante, L., Matemilola, S., & Elegbede, I. (2021). *Water bodies quality assessment and trophic gradient monitoring of the Llanquihue lake-Maullin River in Chile from years 1999-2014*. Jmaterenvirosci.com.
http://www.jmaterenvirosci.com/Document/vol12/vol12_N7/JMES-2021-12076-Kies.pdf

Kosten S, Huszar VL, Bécares E, et al. (2012) Warmer climates boost cyanobacterial dominance in shallow lakes. *Global Change Biology* 18(1):118-126

Kowalewska, G. (2001). Algal pigments in Baltic sediments as markers of ecosystem and climate changes. *J. Clim. Res.*, 18, 89-96.
DOI: [10.3354/cr018089](https://doi.org/10.3354/cr018089)

Kuefner, W., Hofmann, A. M., Geist, J., Dubois, N., & Raeder, U. (2021). Algal community change in Mountain Lakes of the alps reveals effects of climate

warming and shifting Treelines¹. *Journal of Phycology*, 57(4), 1266–1283.
<https://doi.org/10.1111/jpy.13163>

Kutzbach, J. E., Liu, X., Liu, Z., & Chen, G. (2008). Simulation of the evolutionary response of global summer monsoons to orbital forcing over the past 280,000 years. *Climate Dynamics*, 30(6), 567–579. <https://doi.org/10.1007/s00382-007-0308-z>

Lami, A.; Musazzi, S.; Marchetto, A.; Buchaca, T.; Kernan, M.; Jeppesen, E.; Guilizzoni, P. (2009). Sedimentary pigments in alpine lakes and their relation to environmental gradients. *Adv Limnol.*, 62:247–268.
DOI: 10.1127/advlim/62/2009/247

Last, W. y J. Smol (eds). 2001. Physical and geochemical methods: Tracking environmental change using lake sediments. Kluwer Academic Publishers. New York, USA.

Leavitt P.R.; Cummings, B.F.; Smol, J.P.; Reasoner, M.; Pienitz, R.; Hodgson, D.A. (2003). Climatic control of ultraviolet radiatin effects on lakes. *Limnol. Oceanograp.*, 48(5), 2062-2069. <https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.5.2062>

Leavitt, P.R.; Hodgson, A. (2001). Sedimentary pigments. In Tracking environmental change using lake sediments: Volume 3: Terrestrial, algal and siliceous indicators. Smol, J.P.; Birks, H. J. B.; Last W.M. Eds. *Kluwer Academic Publishers: New York, USA*, pp. 295–325.
<https://doi.org/10.1007/0-306-47668-1>

Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C.-Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 62. <https://doi.org/10.3791/3923>

Lee, T., G. Rollwagen-Bollens, S. Bollens y J. Faber-Hammond. (2015). Environmental influence on cyanobacteria abundance and microcystin toxin production in a shallow temperate lake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 114: 318–325.

Legendre P; Gallagher E.D. (2001). Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, 129:271-280.
<https://doi.org/10.1007/s004420100716>

Lewis, S. y M. Maslin. (2015). A transparent framework for defining the Anthropocene Epoch. *The Anthropocene Review*, 2(2): 128-146.

- 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(2), 272–278. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2005.06.001>
- Lüning, S., Gałka, M., Bamonte, F. P., Rodríguez, F. G., & Vahrenholt, F. (2019). The medieval climate anomaly in south America. *Quaternary International: The Journal of the International Union for Quaternary Research*, 508, 70–87. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2018.10.041>
- Lüning, S., Gałka, M., Danladi, I. B., Adagunodo, T. A., & Vahrenholt, F. (2018). Hydroclimate in Africa during the Medieval Climate Anomaly. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 495, 309–322. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2018.01.025>
- Maberly, S.C.; O'Donnell, R. A.; Woolway, R. I.; Cutler, M.E.J.; Gong, M.; Ian D. Jones, I.D.; Merchant, C.J.; Miller, C.A.; Politi, E.; Scott, E.M.; Thackeray, S.J.; & Tyler, A.N. (2020). Global lake thermal regions shift under climate change. *Nat Commun*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15108-z>
- Magee, M.R.; Wu, C.H. (2017). Response of water temperatures and stratification to changing climate in three lakes with different morphometry.. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 21: 6253–6274, 2017 <https://doi.org/10.5194/hess-21-6253-2017>
- Makri, S., Lami, A., Lods-Crozet, B., & Loizeau, J.-L. (2019). Reconstruction of trophic state shifts over the past 90 years in a eutrophicated lake in western Switzerland, inferred from the sedimentary record of photosynthetic pigments. *Journal of Paleolimnology*, 61(2), 129–145. <https://doi.org/10.1007/s10933-018-0049-5>
- Maldonado, A.; Villagrán, C. (2006). Climate variability over the last 9900 cal yr BP from a swamp forest pollen record along the semiarid coast of Chile. *Quat. Res.*, 66, 246–258. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2006.04.003>
- Malone, T.C.; Newton, A. (2020). The Globalization of Cultural Eutrophication in the Coastal Ocean: Causes and Consequences. *Front. Mar. Sci.* 7:670. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00670>
- Mann, M. E. (2002). Large-Scale Climate Variability and Connections with the Middle East in Past Centuries. *Climatic change*, 55(3), 287–314. <https://doi.org/10.1023/a:1020582910569>
- Mann, M. E., Zhang, Z., Hughes, M. K., Bradley, R. S., Miller, S. K., Rutherford, S., & Ni, F. (2008). Proxy-based reconstructions of hemispheric and global surface temperature variations over the past two millennia. *Proceedings of*

the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(36), 13252–13257. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805721105>

Mann, M. E., Zhang, Z., Rutherford, S., Bradley, R. S., Hughes, M. K., Shindell, D., Ammann, C., Faluvegi, G., & Ni, F. (2009). Global signatures and dynamical origins of the Little Ice Age and Medieval Climate Anomaly. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5957), 1256–1260. <https://doi.org/10.1126/science.1177303>

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

Martinez, C., Rojas, C., Rojas, O., Quezada, J., Lopez, P., Ruiz, V. Crecimiento urbano sobre geoformas costeras de la llanura de San Pedro, área Metropolitana de Concepción. In: *En las costas del Neoliberalismo: naturaleza, urbanización y producción inmobiliaria: experiencias en Chile y Argentina*; Hidalgo R., Santana, D., Voltaire, A. Arenas, F., Salazar, A., Valdebenito, C., Alvarez, L., Eds. 2016. *Geolibros No. 23*. Santiago, Chile. 287-312.

Masiokas, M. H., Rivera, A., Espizua, L. E., Villalba, R., Delgado, S., & Aravena, J. C. (2009). Glacier fluctuations in extratropical South America during the past 1000years. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 281(3–4), 242–268. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2009.08.006>

Matsumoto, G., Honda, E., Seto, K., Tani, Y., Watanabe, T., Ohtani, S., Kashima, K., Nakamura, T., & Imura, S. (2014). Holocene paleolimnological changes of Lake Oyako-ike in the Soya Kaigan of East Antarctica. *Inland waters : journal of the International Society of Limnology*, 4(2), 105–112. <https://doi.org/10.5268/iw-4.2.679>

Matthews, J. A., & Briffa, K. R. (2005). The 'little ice age': re-evaluation of an evolving concept. *Geografiska Annaler: Series A, Physical Geography*, 87(1), 17–36. <https://doi.org/10.1111/j.0435-3676.2005.00242.x>

Meyer, I., Van Daele, M., Fiers, G., Verleyen, E., De Batist, M., & Verschuren, D. (2018). Sediment reflectance spectroscopy as a paleo-hydrological proxy in East Africa: VIS-RS as a paleo-hydrological proxy in E Africa. *Limnology and Oceanography, Methods*, 16(2), 92–105. <https://doi.org/10.1002/lom3.10230>

Michelutti, N., Blais, J.M., Cumming, B.F., Paterson, A.M., Rühland, K.M., Wolfe, A.P., & Smol, J.P. (2010). Do spectrally inferred determinations of chlorophyll

a reflect trends in lake trophic status?. *Journal of Paleolimnology*, 43, 205-217. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9325-8>

Ministerio del Medio Ambiente. (2022). Declaratoria Santuario de la Naturaleza Laguna Grande – Humedal Los Batros. Diario Oficial de la República de Chile Número 42. CVE 2093050. Santiago. Disponible en: <https://www.doe.cl/alerta/03032022/2093050>

Moir, K. E., Hickey, M. B. C., Leavitt, P. R., Ridal, J. J., & Cumming, B. F. (2018). Paleolimnological proxies reveal continued eutrophication issues in the St. Lawrence River Area of Concern. *Journal of Great Lakes Research*, 44(3), 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2018.02.001>

Montes, I.-Y., Banegas-Medina, A., Fagel, N., El Ouahabi, M., Verleyen, E., Alvarez, D., Torrejón, F., Schmidt, S., Lepoint, G., Diaz, G., Pedreros, P., & Urrutia, R. (2021). Late Holocene paleoenvironmental evolution of two coastal lakes in Mediterranean Chile and its implications for conservation planning. *Applied Sciences (Basel, Switzerland)*, 11(8), 3478. <https://doi.org/10.3390/app11083478>

Mora, D., G. Ricci, S. Guglielmetti, D. Daffonchio y M. Fortina. (2003). 16S–23S rRNA intergenic spacer region sequence variation in *Streptococcus thermophilus* and related dairy streptococci and development of a multiplex ITS-SSCP analysis for their identification. *Microbiology*, 149: 807–813.

Morales, M. S., Villalba, R., Grau, H. R., & Paolini, L. (2004). Rainfall-controlled tree growth in high-elevation subtropical treelines. *Ecology*, 85(11), 3080–3089. <https://doi.org/10.1890/04-0139>

Mortlock, R.A.; Froellich, P.N. (1989). Instruments and methods a simple method for the rapid determination of biogenic opal in pelagic marine sediments. *Deep-Sea Res.*, 36(9), 1415–1426. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(89\)90092-7](https://doi.org/10.1016/0198-0149(89)90092-7)

Moss, B. (2011). Allied attack: climate change and eutrophication. *Inland waters: journal of the International Society of Limnology*, 1(2), 101–105. <https://doi.org/10.5268/iw-1.2.359>

Moustaka-Gouni, M., Sommer, U., Katsiapi, M., & Vardaka, E. (2020). Monitoring of cyanobacteria for water quality: doing the necessary right or wrong? *Marine & Freshwater Research*, 71(5), 717. <https://doi.org/10.1071/mf18381>

Nazari-Sharabian, M., Ahmad, S., & Karakouzian, M. (2018). Climate Change and Eutrophication: A Short Review. *Engineering, Technology and Applied Science Research*, 8(6), 3668. https://digitalscholarship.unlv.edu/fac_articles/562/

Neukom, R., Luterbacher, J., Villalba, R., Küttel, M., Frank, D., Jones, P. D., Grosjean, M., Wanner, H., Aravena, J.-C., Black, D. E., Christie, D. A., D'Arrigo, R., Lara, A., Morales, M., Soliz-Gamboa, C., Srur, A., Urrutia, R., & von Gunten, L. (2011). Multiproxy summer and winter surface air temperature field reconstructions for southern South America covering the past centuries. *Climate Dynamics*, 37(1–2), 35–51. <https://doi.org/10.1007/s00382-010-0793-3>

Neukom, Raphael, Gergis, J., Karoly, D. J., Wanner, H., Curran, M., Elbert, J., González-Rouco, F., Linsley, B. K., Moy, A. D., Mundo, I., Raible, C. C., Steig, E. J., van Ommen, T., Vance, T., Villalba, R., Zinke, J., & Frank, D. (2014). Inter-hemispheric temperature variability over the past millennium. *Nature Climate Change*, 4(5), 362–367. <https://doi.org/10.1038/nclimate2174>

Nübel U., F. García- Pichel y G. Muyzer. PCR Primers To Amplify 16S rRNA Genes from Cyanobacteria. (1997). *Applied and environmental microbiology*, 63: 3327–3332.



Nwosu, E. C., Roeser, P., Yang, S., Ganzert, L., Dellwig, O., Pinkerneil, S., Brauer, A., Dittmann, E., Wagner, D., & Liebner, S. (2021). From water into sediment-tracing freshwater Cyanobacteria via DNA analyses. *Microorganisms*, 9(8), 1778. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081778>

Nyssen, F.; Brey, T.; Lepoint, G.; Bouquegneau, J.M.; De Broyer, C.; Dauby, P. (2002). A stable isotope approach to the eastern Weddell Sea trophic web: focus on benthic amphipods. *Polar Biol.*, 25, 280–287. <https://doi.org/10.1007/s00300-001-0340-0>

O'Beirne M, Werne J, Hecky R, Johnson T, Katsev S, Reavie ED (2017) Anthropogenic climate change has altered primary productivity in Lake Superior. *Nature communications* 8(1):1-8

Otero Durán, L. (2008). La huella del fuego. Historia de los bosques nativos. Poblamiento y cambios en el paisaje del sur de Chile. Santiago: CONAF - kfw, gtz, ded - Pehuén Editores, 2006, 171 pp. *Historia crítica (Bogota, Colombia)*, 36, 228–234. <https://doi.org/10.7440/histcrit36.2008.12>.

- Paerl HW, Paul VJ (2012) Climate change: links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water research* 46(5):1349-1363
- Paerl, H. W., Havens, K. E., Hall, N. S., Otten, T. G., Zhu, M., Xu, H., Zhu, G., & Qin, B. (2020). Mitigating a global expansion of toxic cyanobacterial blooms: confounding effects and challenges posed by climate change. *Marine & Freshwater Research*, 71(5), 579. <https://doi.org/10.1071/mf18392>
- Paerl, H.W.; Scott, J.T. (2010). Throwing Fuel on the Fire: Synergistic Effects of Excessive Nitrogen Inputs and Global Warming on Harmful Algal Blooms. 44, 7756–7758. *Environ. Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1021/es102665e>
- Paerl, H.W.; Paul, V.J. (2012). Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria. *Water Res.*, 46, 1349–1363. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.002>
- Paerl, H.W.; Wayne S. G.; Havens, K.E.; Joyner, A.R.; McCarthy, M.J.; Newell, S.E.; Qin, B.; Scottf, J.T. (2016). Mitigating cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems impacted by climate change and anthropogenic nutrients. *Harmful Algae*. 54: 213–222. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2015.09.009> .
- PAGES 2k Consortium. (2013). Continental-scale temperature variability during the past two millennia. *Nature Geoscience*, 6(5), 339–346. <https://doi.org/10.1038/ngeo1797>
- Pal, S.; Gregory-Eaves, I.; Pick, F.R. (2015). Temporal trends in cyanobacteria revealed through DNA and pigment analyses of temperate lake sediment cores. *J. Paleolimnol*, 87–101. <https://doi.org/10.1007/s10933-015-9839-1>
- Parra O (1989) La eutroficación de la Laguna Grande de San Pedro, Concepción, Chile: un caso de estudio. *Ambiente y Desarrollo* 5(1):117-136
- Parra, O. 2014. Identificación, monitoreo y evaluación del riesgo de la población del Gran Concepción ante la Presencia de Cianobacterias y Cianotoxinas. (Proyecto FONIS/CONICYT SA13-20211). [presentación de powerpoint].
- Parra, O. y C. Bicudo. (1995). Introducción a la biología y sistemática de las algas de continentales. Santiago, Chile.
- Parra, O., D. Aviles, J. Becerra, V. Dellarossa y R. Montoya. (1986). First toxic blue green algal bloom recorder for Chile: a preliminary report. *Gayana Botanica*, 43: 15-17.

- Parra, O., E. Ugarte, S. Mora, M. Liberman, A. Aron y L. Balabanoff. (1980). Remarkson a bloom of *Microcystis aeruginosa* Kützing. *NovaHedwigia*.
- Parra, O., N. DellaCroce y C. Valdovinos. (2004). Elementos de limnología aplicada. Microart´sEdizioni.
- Parra, O.; Valdovinos, C.; Urrutia, R.; Cisternas, M.; Habit, E.; Mardones, M. (2003). Caracterización y tendencias tróficas de cinco lagos costeros de Chile Central. *Limnetica*, 22(1–2), 51–83.
- Pearman, J. K., Thomson-Laing, G., Howarth, J. D., Vandergoes, M. J., Thompson, L., Rees, A., & Wood, S. A. (2021). Investigating variability in microbial community composition in replicate environmental DNA samples down lake sediment cores. *PloS One*, 16(5), e0250783. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0250783>
- Pedrerros-Guarda, M., Abarca-del-Río, R., Escalona, K., García, I., & Parra, O. (2021). A Google Earth Engine application to retrieve long-term surface temperature for small lakes. Case: San Pedro lagoons, Chile. *Remote Sensing*, 13(22), 4544. <https://doi.org/10.3390/rs13224544>
- Picard, M., Wood, S. A., Pochon, X., Vandergoes, M. J., Reyes, L., Howarth, J. D., Hawes, I., & Puddick, J. (2022). Molecular and pigment analyses provide comparative results when reconstructing historic cyanobacterial abundances from lake sediment cores. *Microorganisms*, 10(2), 279. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020279>
- R Development Core Team. (2016). R: a language and environment for statistical computing, version 2.6.2. R Foundation for Statistical Computing; Vienna, Austria. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 14 september 2018)
- Ramsey, C.B. (2005). OxCal Program Version 3.10; Manual; Oxford Radiocarbon Accelerator Unit: Oxford, UK, Available online: <https://c14.arch.ox.ac.uk/oxcal3/oxcal.htm> (accessed on 10 October 2020).
- Reichwaldt, E. y A. Ghadouani. (2012). Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: Between simplistic scenarios and complex dynamics. *Water Research*, 46: 1372-1393.
- Rein, B., & Sirocko, F. (2002). In-situ reflectance spectroscopy – analysing techniques for high-resolution pigment logging in sediment cores.

Reuss, N. (2005). Sediment pigments as biomarkers of environmental change. Ph.D. thesis. National Environmental Research Institute, Roskilde, University of Copenhagen, Denmark.

Reuss, N., Leavitt, P. R., Hall, R. I., Bigler, C., & Hammarlund, D. (2010). Development and application of sedimentary pigments for assessing effects of climatic and environmental changes on subarctic lakes in northern Sweden. *Journal of Paleolimnology*, 43(1), 149–169. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9323-x>

Richardson, J., Feuchtmayr, H., Miller, C., Hunter, P. D., Maberly, S. C., & Carvalho, L. (2019). Response of cyanobacteria and phytoplankton abundance to warming, extreme rainfall events and nutrient enrichment. *Global Change Biology*, 25(10), 3365–3380. <https://doi.org/10.1111/gcb.14701>

Rigosi A, Carey CC, Ibelings BW, Brookes JD (2014) The interaction between climate warming and eutrophication to promote cyanobacteria is dependent on trophic state and varies among taxa. *Limnology and Oceanography* 59(1):99-114

Rodríguez-López, L., Lami, A., El Ouahabi, M., Fagel, N., Álvarez, D., González-Rodríguez, L., Schmidt, S., & Urrutia, R. (2022). Fossil pigments and environmental conditions in the oligotrophic Laja Lake in the Chilean Andes. *Anthropocene*, 37(100321), 100321. <https://doi.org/10.1016/j.ancene.2022.100321>

Rojas, M., Arias, P. A., Flores-Aqueveque, V., Seth, A., & Vuille, M. (2015). The South American monsoon variability over the Last Millennium in CMIP5/PMIP3 simulations. *Climate of the Past Discussions*, 11(6), 5651–5681. <https://doi.org/10.5194/cpd-11-5651-2015>

Rojas, Maisa, Arias, P. A., Flores-Aqueveque, V., Seth, A., & Vuille, M. (2016). The South American monsoon variability over the last millennium in climate models. *Climate of the Past*, 12(8), 1681–1691. <https://doi.org/10.5194/cp-12-1681-2016>

Romero-Viana, L., Keely, B. J., Camacho, A., Vicente, E., & Miracle, M. R. (2010). Primary production in Lake La Cruz (Spain) over the last four centuries: reconstruction based on sedimentary signal of photosynthetic

pigments. *Journal of Paleolimnology*, 43(4), 771–786.
<https://doi.org/10.1007/s10933-009-9367-y>

Routh, J.; Choudhary, P.; Meyers, P. A.; Kumar, B. (2008). A sediment record of recent nutrient loading and trophic state change in Lake Norrviken, Sweden. *J. Paleolimnol*, 42(3): 325–341. <https://doi.org/10.2307/3597423doi:10.1007/s10933-008-9279-2>

Saad, A. y A. Atia. (2014). Review on Freshwater Blue-Green Algae (Cyanobacteria): Occurrence, Classification and Toxicology. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 11: 1319-1325.

Salvatteci, R., Gutierrez, D., Sifeddine, A., Ortlieb, L., Druffel, E., Boussafir, M., & Schneider, R. (2016). Centennial to millennial-scale changes in oxygenation and productivity in the Eastern Tropical South Pacific during the last 25,000 years. *Quaternary Science Reviews*, 131, 102–117.
<https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2015.10.044>

Sanchini, A., & Grosjean, M. (2020). Quantification of chlorophyll a, chlorophyll b and pheopigments a in lake sediments through deconvolution of bulk UV–VIS absorption spectra. *Journal of Paleolimnology*, 64(3), 243–256.
<https://doi.org/10.1007/s10933-020-00135-z>

Sanchini, A.; Szidat, S.; Tylman, W.; Vogel, H.; Wacnik, A.; Grosjean, M.A. (2020). Holocene high-resolution record of aquatic productivity, seasonal anoxia and meromixis from varved sediments of Lake Łazduny, North-Eastern Poland: insight from a novel multi-proxy approach. *J. Quat. Sci.*, 1–11. DOI: 10.1002/jqs.3242



Sanger, J.E. (1988). Fossil pigments in paleoecology and paleolimnology. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 62, 343–359.
[https://doi.org/10.1016/0031-0182\(88\)90061-2](https://doi.org/10.1016/0031-0182(88)90061-2)

Savichtcheva O, Debroas D, Perga ME, et al. (2015) Effects of nutrients and warming on P lanktothrix dynamics and diversity: a palaeolimnological view based on sedimentary DNA and RNA. *Freshwater Biology* 60(1):31-49

Schindler, D. W. (2009). Lakes as sentinels and integrators for the effects of climate change on watersheds, airsheds, and landscapes. *Limnology and oceanography*, 54(6part2), 2349–2358.
https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.6_part_2.2349

- Schneider, T., Rimer, D., Butz, C., & Grosjean, M. (2018). A high-resolution pigment and productivity record from the varved Ponte Tresa basin (Lake Lugano, Switzerland) since 1919: insight from an approach that combines hyperspectral imaging and high-performance liquid chromatography. *Journal of Paleolimnology*, 60(3), 381–398. <https://doi.org/10.1007/s10933-018-0028-x>
- Shatwell, T., & Köhler, J. (2019). Decreased nitrogen loading controls summer cyanobacterial blooms without promoting nitrogen-fixing taxa: Long-term response of a shallow lake: Long-term lake response to decreased nitrogen. *Limnology and Oceanography*, 64(S1), S166–S178. <https://doi.org/10.1002/lno.11002>
- Slemmons, K., J. Saros, J. Stone, S. McGowan, C. Hess y D. Cahl. (2015). Effects of glacier meltwater on the algal sedimentary record of an alpine lake in the central US Rocky Mountains throughout the late Holocene. *Journal Paleolimnology*, 53: 385-399.
- Smol JP, Wolfe AP, Birks HJB, et al. (2005) Climate-driven regime shifts in the biological communities of arctic lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(12):4397-4402
- Smol, J. P., Wolfe, A. P., Birks, H. J. B., Douglas, M. S. V., Jones, V. J., Korhola, A., Pienitz, R., Rühland, K., Sorvari, S., Antoniades, D., Brooks, S. J., Fallu, M.-A., Hughes, M., Keatley, B. E., Laing, T. E., Michelutti, N., Nazarova, L., Nyman, M., Paterson, A. M., Weckström, J. (2005). Climate-driven regime shifts in the biological communities of arctic lakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(12), 4397–4402. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500245102>
- Soares, J. H. F., Moreira, L. S., Turcq, B., Moreira-Turcq, P., Sifeddine, A., Dornellas, N., Evangelista, H., Nogueira, J., Aniceto, K., Martins, G. S., Kury, M. S., Brandini, N., Contrera, J. M., & Cordeiro, R. C. (2022). Development of lacustrine primary productivity in the Amazon Basin during the Holocene. *The Holocene*, 095968362210882. <https://doi.org/10.1177/09596836221088233>
- Steffen, W., J. Grinevald, P. Crutzen y J. McNeill. (2011). The Anthropocene: conceptual and historical perspectives. *Philosophical Transactions of The Royal Society A*, 369: 842-867.
- Stuardo J. y C. Valdovinos. (1989). Estuarios y lagunas costeras: ecosistemas importantes del Chile central. *Ambiente y Desarrollo*, 1: 107-115.

- Stupar, Y.V.; Schäfer, J.; García M.G.; Schmidt, S.; Piovano, E.; Blanc, G.; Huneau, F.; Le Coustumer P. (2014). Historical mercury trends recorded in sediments from the Laguna del Plata, Córdoba, Argentina. *Chem. Erde*, 74, 353-363. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2013.11.002>
- Sukenik, A., & Kaplan, A. (2021). Cyanobacterial harmful algal blooms in aquatic ecosystems: A comprehensive outlook on current and emerging mitigation and control approaches. *Microorganisms*, 9(7), 1472. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071472>
- Sukenik, A., Quesada, A. & Salmaso, N. (2015). Global expansion of toxic and non-toxic cyanobacteria: effect on ecosystem functioning. *Biodivers Conserv* 24, 889–908. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0905-9>
- Swain, E. B. (1985). Measurement and interpretation of sedimentary pigments. *Freshwater Biology*, 15(1), 53–75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1985.tb00696.x>
- Talbot, M.R.; Johannessen, T. (1992). A high resolution palaeoclimatic record for the last 27,500 years in tropical West Africa from the carbon and nitrogen isotopic composition of lacustrine organic matter. *Earth Planet. Sci. Lett.*, 110: 23–37. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(92\)90036-U](https://doi.org/10.1016/0012-821X(92)90036-U)
- Talbot, M.R.; Lærdal, T. (2000). The Late Pleistocene-Holocene palaeolimnology of Lake Victoria, East Africa, based upon elemental and isotopic analyses of sedimentary organic matter. *J. Paleolimnol.*, 23, 141–164. <https://doi.org/10.1023/A:1008029400463>
- Teng, M., Zeng, L., Hu, W., Wang, P., Yan, Z., He, W., Zhang, Y., Huang, Z., & Xiao, W. (2020). The impacts of climate changes and human activities on net primary productivity vary across an ecotone zone in Northwest China. *The Science of the Total Environment*, 714(136691), 136691. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136691>
- Tõnno, I., Nauts, K., Belle, S., Nõmm, M., Freiberg, R., Kõiv, T., & Alliksaar, T. (2019). Holocene shifts in the primary producer community of large, shallow European Lake Peipsi, inferred from sediment pigment analysis. *Journal of Paleolimnology*, 61(4), 403–417. <https://doi.org/10.1007/s10933-019-00067-3>
- Torrejón F, Cisternas M (2002) Alteraciones del paisaje ecológico araucano por la asimilación mapuche de la agroganadería hispano-mediterránea (siglos XVI y XVII). *Revista chilena de historia natural* 75(4):729-736

Torrejón, F.; Cisternas, M. (2002). Alteraciones del paisaje ecológico araucano por la asimilación mapuche de la agroganadería hispanomediterránea (siglos XVI y XVII). *Rev. Chil. Hist. Nat.*,75(4):729-736. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2002000400008>

Torrejón, F.; Cisternas, M. (2003). Impacto ambiental temprano en la Araucanía deducido de crónicas españolas y estudios historiográficos. *Bosque*, 24(3), 45-55. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002003000300005>

Troncoso, J.M.; Vergara, C.; Alvarez, D.; Diaz, G.; Fierro, P.; Araneda, A.; Torrejón, F.; Rondanelli, M.; Fagel, N. Urrutia, R. (2018). A new multi-proxy record of environmental change over the last 1000 years on Chiloé Island: Lake Pastahué, south-central Chile (42°S). *Holocene*, 29 (3): 1-11. <https://doi.org/10.1177/0959683618816492>

Tse TJ, Doig LE, Tang S, et al. (2018) Combining high-throughput sequencing of seda DNA and traditional paleolimnological techniques to infer historical trends in cyanobacterial communities. *Environmental science & technology* 52(12):6842-6853

Tse, T.J.; Doig, L.E.; Leavitt, P.R.; Quiñones-Rivera, Z.J.; Codling, G.; Lucas, B.T.; Liber, k.; Giesy, J.P.; Wheeler, H.; Jones, P.D. (2015). Long-term spatial trends in sedimentary algal pigments in a narrow river-valley reservoir, Lake Diefenbaker, Canada. *J Great Lakes Res.* 41:56–66. <http://dx.doi.org/10.1016>

Urrutia R, Sabbe K, Cruces F, et al. (2000) Paleolimnological studies of Laguna Chica of San Pedro (VIII Region): Diatoms, hydrocarbons and fatty acid records. *Revista Chilena de Historia Natural* 73(4):717-728

Urrutia, R. 2014. Eutroficación y floraciones algales. [presentaciónpowerpoint].

Urrutia, R.; Sabbe, K.; Cruces, F.; Pozo, K.; Becerra, J.; Araneda, A.; Vyverman, W.; Parra, O. (2000). Paleolimnological studies of Laguna Chica of San Pedro (VIII Region): Diatoms, hydrocarbons and fatty acid records. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 73, 717–728. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2000000400014>

Van Heukelem, L.; Thomas, C.S. (2001). Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *J. Chromatograp. A*, 910, 31–49. [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00603-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00603-4)

Vanderstukken, M., N. Mazzeo, W. Van Colen, S. Declerck y K. Muylaert. (2011). Biological control of phytoplankton by the subtropical submerged

macrophytes *Egeria densa* and *Potamogeton illinoensis*: a mesocosms study. *Freshwater Biology*, 56: 1837-1849.

- Vaslet, A.; Bouchon-Navaro, Y.; Harmelin-Vivien, M.; Lepoint, G.; Louis, M.; Bouchon, C. (2015). Foraging habits of reef fishes associated with mangroves and seagrass beds in a Caribbean lagoon: a stable isotope approach. *Cienc. Mar*, 41(3), 217–232. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i3.2494>
- Veit, H. (1996). Southern Westerlies during the Holocene deduced from geomorphological and pedological studies in the Norte Chico, Northern Chile (27–33°S). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 123(1–4), 107–119. [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(95\)00118-2](https://doi.org/10.1016/0031-0182(95)00118-2)
- Vera, C., Silvestri, G., Liebmann, B., & González, P. (2006). Climate change scenarios for seasonal precipitation in South America from IPCC-AR4 models. *Geophysical Research Letters*, 33(13). <https://doi.org/10.1029/2006gl025759>
- Verleyen, E.; Hodgson, D. A.; Sabbe, K.; Cremer, H.; Emslie, S. D.; Gibson, J.; Hall, B.; Imura, S.; Marshall, G.J.; Munn, A.; Melles, M.; Newman, L.; Roberts, D.; Roberts, S.J.; Singh, S.M.; Sterken, M.; Tavernier, I.; Verkuilich, S.; Van de Vyver, E.; Van Nieuwenhuize, W.; Wagner, B.; Vyverman, W. (2011). Post-glacial regional climate variability along the East Antarctic coastal margin — Evidence from shallow marine and coastal terrestrial records. *Earth-Sci. Rev.*, 104, 199–212. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2010.10.006>
- Verleyen, E.; Hodgson, D.A.; Leavitt, P.R. (2004). Quantifying habitat-specific diatom production: A critical assessment using morphological and biogeochemical markers in Antarctic marine and lake sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 49(5):1528-1539. <https://doi.org/10.2307/3597423>
- Verleyen, E.; Hodgson, D.A.; Sabbe, K.; Vyverman, W. (2005). Late Holocene changes in ultraviolet radiation penetration recorded in an East Antarctic lake. *J. Paleolimnol.*, 34, 191–202. <https://doi.org/10.1007/s10933-005-4402-0>
- Verspagen, J., D. Van de Waal, J. Finke, P. Visser, E. Van Donk y J. Huisman. (2014). Rising CO₂ Levels Will Intensify Phytoplankton Blooms in Eutrophic and Hypertrophic Lakes. *Plos One* 9(8): e104325.
- Villalba, R. (1990). Climatic fluctuations in northern Patagonia during the last 1000 years as inferred from tree-ring records. *Quaternary Research*, 34(3), 346–360. [https://doi.org/10.1016/0033-5894\(90\)90046-n](https://doi.org/10.1016/0033-5894(90)90046-n)

Villa-Martínez, R.; Villagrán, C. (1997). Historia de la vegetación de bosques pantanosos de la costa de Chile central durante el Holoceno medio y tardío. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 70, 391–401

Vinebrooke, R. D., Hall, R. I., Leavitt, P. R., & Cumming, B. F. (1998). Fossil pigments as indicators of phototrophic response to salinity and climatic change in lakes of western Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 55(3), 668–681. <https://doi.org/10.1139/f97-263>

Von Gunten, L., M. Grosjean, B. Rein, R. Urrutia y P. Appleby. (2009). A quantitative high-resolution summer temperature reconstruction based on sedimentary pigments from Laguna Aculeo, Central Chile, back to AD 850. *The Holocene*, 19: 873-881.

Vuille, M., Burns, S. J., Taylor, B. L., Cruz, F. W., Bird, B. W., Abbott, M. B., Kanner, L. C., Cheng, H., & Novello, V. F. (2012). A review of the South American monsoon history as recorded in stable isotopic proxies over the past two millennia. *Climate of the Past*, 8(4), 1309–1321. <https://doi.org/10.5194/cp-8-1309-2012>

Vuillemin, A., Ariztegui, D., Leavitt, P. R., Bunting, L. (2016). Recording of climate and diagenesis through sedimentary DNA and fossil pigments at Laguna Potrok Aike, Argentina. *Biogeosciences*, 13(8), 2475–2492. <https://doi.org/10.5194/bg-13-2475-2016>

Wanner H, Beer J, Bütikofer J, et al. (2008) Mid-to Late Holocene climate change: an overview. *Quaternary Science Reviews* 27(19-20):1791-1828

Wanner, H.; Beer, J.; Butikofer, J.; Crowley, T.J.; Cubasch, U.; Gose, H.; Grosjean, M.; Joos, F.; Kaplan, J.O.; Kutell, M.; Muller, S.A.; Prentice, C.; Solomina, O.; Stocker, T.F.; Tarasov, P.; Wagner, M.; Widmann, M. Mid- to (2008). Late Holocene climate change: an overview. *Quat. Sci. Rev.*, 27, 1791–1828. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.06.013>

Weber, S. J., Mishra, D. R., Wilde, S. B., & Kramer, E. (2020). Risks for cyanobacterial harmful algal blooms due to land management and climate interactions. *The Science of the Total Environment*, 703(134608), 134608. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134608>

Wetzel, R. (2001). *Limnology: lake and river ecosystems*. Academic Press. San Diego. USA.

Woolway, R.I.; Kraemer, B.M.; Lenters, J.D.; Merchant, C. J.; O'Reilly, C.M.; Sharma, S. (2020). Global lake responses to climate change. *Nat. Rev. Earth Environ.* <https://doi.org/10.1038/s43017-020-0067-5>

Wu, N., B. Schmalz y N. Fohrer. (2012). Development and testing of a phytoplankton index of biotic integrity (P-IBI) for a German lowland river. *Ecological Indicators*, 13: 158-167.

Xu, X., W. Li, M. Fujibayashi, M. Nomura, O. Nishimura, X. Li. (2015). Predominance of terrestrial organic matter in sediments from a cyanobacteria- blooming hypereutrophic lake. *Ecological Indicators*, 50:35–43.

Yang Z, Zhang M, Shi X, Kong F, Ma R, Yu Y (2016) Nutrient reduction magnifies the impact of extreme weather on cyanobacterial bloom formation in large shallow Lake Taihu (China). *Water research* 103:302-310

Yang, S., Cui, Z., Zhang, Y., Jiang, T., Yang, Q., & Sun, Y. (2019). Photosynthetic pigments in surface sediments in the northwest of the Bohai Sea, China: Potential implications for sediment deposition of brown tides of *Aureococcus anophagefferens* in coastal waters. *Ecological Indicators*, 102, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.02.037>


Zalaciewicz, J., M. Williams, A. Haywood y M. Ellis. (2011). The antropocene: a new epoch of geological time? *Philosophical Transactions of The Royal Society A*, 369: 835-841.



Zamparas, M., & Zacharias, I. (2014). Restoration of eutrophic freshwater by managing internal nutrient loads. A review. *The Science of the Total Environment*, 496, 551–562. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.076>

Zander, P. D., Żarczyński, M., Vogel, H., Tylmann, W., Wacnik, A., Sanchini, A., & Grosjean, M. (2020). A high-resolution record of Holocene primary productivity and water-column mixing from the varved sediments of Lake Żabińskie, Poland. *The Science of the Total Environment*, 755(Pt 2), 143713. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143713>

Zastepa, A., Taranu, Z. E., Kimpe, L. E., Blais, J. M., Gregory-Eaves, I., Zurawell, R. W., & Pick, F. R. (2017). Reconstructing a long-term record of microcystins from the analysis of lake sediments. *The Science of the Total Environment*, 579, 893–901. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.211>

- Zeng L, McGowan S, Cao Y, Chen X (2018) Effects of dam construction and increasing pollutants on the ecohydrological evolution of a shallow freshwater lake in the Yangtze floodplain. *Science of the Total Environment* 621:219-227
- Zeng, N., Yoon, J.-H., Marengo, J. A., Subramaniam, A., Nobre, C. A., Mariotti, A., & Neelin, J. D. (2008). Causes and impacts of the 2005 Amazon drought. *Environmental research letters*, 3(1), 014002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/3/1/014002>
- Zhang, H., Huo, S., Yeager, K. M., & Wu, F. (2021). Sedimentary DNA record of eukaryotic algal and cyanobacterial communities in a shallow Lake driven by human activities and climate change. *The Science of the Total Environment*, 753(141985), 141985. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141985>
- Zhang, H., Huo, S., Yeager, K. M., He, Z., Xi, B., Li, X., Ma, C., & Wu, F. (2019). Phytoplankton response to climate changes and anthropogenic activities recorded by sedimentary pigments in a shallow eutrophied lake. *The Science of the Total Environment*, 647, 1398–1409. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.081>
- Zhang, Y., Liang, J., Zeng, G., Tang, W., Lu, Y., Luo, Y., Xing, W., Tang, N., Ye, S., Li, X., & Huang, W. (2020). How climate change and eutrophication interact with microplastic pollution and sediment resuspension in shallow lakes: A review. *The Science of the Total Environment*, 705(135979), 135979. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135979>
- 
- Zhao, C. S., Shao, N. F., Yang, S. T., Ren, H., Ge, Y. R., Zhang, Z. S., Feng, P., & Liu, W. L. (2019). Quantitative assessment of the effects of human activities on phytoplankton communities in lakes and reservoirs. *The Science of the Total Environment*, 665, 213–225. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.117>
- Zhidkova, A. Y., Podberesnij, V. V., Zarubina, R. V., & Kononova, O. A. (2020). The effect of eutrophication on human health on the example of the Gulf of Taganrog of the Sea of Azov. *IOP conference series. Earth and environmental science*, 548(5), 052053. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/5/052053>
- Zullig, H. (1982). Untersuchungen u"ber die Stratigraphie von Carotinoiden im geschichteten Sediment von Schweizer Seen zur Erkundung fru"herer Phytoplankton-entfaltungen. *SCHWEIZ Z HYDROL*, 44:1–98. <https://doi.org/10.1007/BF02502191>