



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE
CENTRO REGIONAL UNIVERSITARIO BARILOCHE**



**LA ESTEQUIOMETRÍA ECOLÓGICA EN AMBIENTES
LÓTICOS NORPATAGÓNICOS AFECTADOS POR EL
CAMBIO CLIMÁTICO**

Trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Biología

Lic. Nicolás Martyniuk

Director: Dr. Esteban Balseiro

Co-Directora: Dra. Beatriz Modenutti

2016

ÍNDICE

ÍNDICE	2
AGRADECIMIENTOS	i
Resumen	ii
Abstract	v
CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN GENERAL Y MARCO TEÓRICO	1
Panorama Global: Cambio Climático y los Glaciares	1
Ecosistemas afectados por cambios en los Glaciares	4
Efecto sobre las comunidades de los arroyos glaciares	6
Objetivo General	11
Objetivos Específicos	11
Hipótesis	11
CAPITULO II	12
AREA DE ESTUDIO E INGRESO DE ARCILLA GLACIAR en arroyos del Monte Tronador	12
Introducción	12
Área de Estudio	14
Caracterización del área de estudio: el Monte Tronador	14
Cambios y Tendencias climáticas en la zona	15
Métodos	16
Arroyos bajo estudio	16
Procedimientos de Muestreo y Laboratorio	19
Mediciones en el arroyo Blanco	19
Datos Meteorológicos	19
Análisis de Datos	20
Resultados y Discusión	20
El arroyo Blanco	20
El arroyo Negro	24
CAPÍTULO III	27

**EL AUMENTO DEL DERRETIMIENTO DE LOS GLACIARES COMO CONSECUENCIA DEL
CAMBIO CLIMÁTICO: ¿UNA PROTECCIÓN TRANSITORIA PARA LAS ALGAS DEL
PERIFITON FRENTE A LA ALTA RADIACIÓN? _____ 27**

Introducción _____ 27

Objetivo General _____ 30

Objetivos Específicos _____ 30

Hipótesis _____ 30

Predicciones _____ 30

Métodos _____ 31

Procedimientos de Muestreo _____ 31

Parámetros de fluorescencia fotosintética _____ 31

Procedimientos de Laboratorio _____ 34

Mediciones de las condiciones lumínicas _____ 35

Experimento de Campo _____ 36

Análisis de la comunidad algal _____ 37

Análisis estadístico y cálculos _____ 37

Resultados _____ 38

Los arroyos _____ 38

Biomasa y relaciones elementales del Perifiton _____ 40

Parámetros Fotosintéticos _____ 42

Estudio Experimental _____ 44

Algas del perifiton _____ 45

Discusión _____ 47

CAPITULO IV _____ 52

**EFFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA ESTRUCTURA DEL BOSQUE: RESPUESTA
ESTEQUIOMÉTRICA DE LOS PRODUCTORES PRIMARIOS DE LOS ARROYOS DE
MONTAÑA _____ 52**

Introducción _____ 52

Objetivo General _____ 56

Objetivos Específicos _____ 56

Hipótesis _____ 56

Predicciones _____ 56

Métodos _____ 57

Arroyos bajo estudio _____	57
Procedimientos de Muestreo _____	58
Mediciones de las condiciones lumínicas _____	59
Parámetros de fluorescencia fotosintética _____	59
Procedimientos de Laboratorio _____	60
Experimento en Campo _____	60
Análisis estadístico y cálculos _____	62
Escenarios futuros bajo el Cambio Climático _____	63
Resultados _____	64
Los arroyos _____	64
Biomasa y relación elemental del Perifiton _____	65
Parámetros Fotosintéticos _____	69
Resultados del Experimento en Campo _____	72
Futuros escenarios de cambio climático _____	72
Discusión _____	74
Predicciones de Cambio Climático _____	77
CAPITULO V _____	80
<i>EL NIVEL TRÓFICO SUPERIOR: MACROINVERTEBRADOS EN AMBIENTES LÓTICOS</i>	
GLACIARES _____	80
Introducción _____	80
Objetivo General _____	84
Objetivos Específicos _____	84
Hipótesis _____	84
Predicciones _____	84
Métodos _____	85
Procedimientos de Muestreo _____	85
Procedimientos de Laboratorio _____	85
Experimento de Campo _____	87
Análisis estadístico y cálculos _____	89
Resultados _____	91
Arroyos _____	91
Análisis de la comunidad de macroinvertebrados _____	92
Abundancia y diversidad de macroinvertebrados _____	93
Estequiometría de los Macroinvertebrados _____	99
Comparación arroyos Blanco y Negro _____	99

Estequiometría en macroinvertebrados del arroyo Blanco _____	99
Estequiometría de los pastoreadores _____	102
Estequiometría de los depredadores _____	104
Experimento de campo con dos tratamientos lumínicos _____	105
Macroinvertebrados _____	105
Sustratos artificiales para el análisis del perifiton _____	107
Discusión _____	109
Caracterización del ensamble de Macroinvertebrados _____	109
Estequiometría de los Macroinvertebrados _____	112
<i>CAPÍTULO VI</i> _____	116
CONCLUSIONES GENERALES _____	116
<i>BIBLIOGRAFÍA</i> _____	120
<i>APENDICE</i> _____	144

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis directores: Esteban y Beatriz, por la guía durante este camino y su constante apoyo. Gracias por enseñarme, corregirme, motivarme, pero sobre todo por escucharme y confiar en mí. Además quiero agradecerle a ambos por facilitarme las herramientas para poder realizar los experimentos y los análisis de esta Tesis. Asimismo quiero agradecer su compañía en las pesadas y largas jornadas de muestreos en Tronador, más allá del frío, la lluvia, el calor, el polvo o los tábanos.

A todas mis COMPAÑERAS del laboratorio: Marce, Chili, Lau, Vero, Sol, Flor, Uara y Carolina. Por compartir la buena onda de todos los días, por los mates en las mañanas, por las charlas divertidas, por aconsejarme, por ayudarme en el laboratorio y en el campo.

A mi compañera en esta vida, Carla. Quien desde la licenciatura banco mis horas de estudios y el repetir incesante de nombres científicos. Quien banco mis ausencias cuando debía ir a muestrear, a cursos, jornadas o congresos. Quien puso interés, me apoyo y me dio fuerzas en este camino que finalizo, y quien seguramente me apoyará en la etapa que está por comenzar.

A mi hija Eimi quien me motivo constantemente con su entusiasmo e intriga por la naturaleza y por querer hacer siempre un *experimento* conmigo.

A mis padres Alicia y Alejandro y a mi hermano Sergio, por haberme inculcado que el estudio y el esfuerzo son la base para realizar cualquier sueño; y que por más que haya problemas en el camino uno debe seguir adelante.

A Adriana y Oscar por su interés y apoyo en esta etapa.

A la Universidad Nacional del Comahue, por permitir realizar mis estudios de doctorado libre y gratuitamente. A CONICET por haberme financiado durante este período con la beca doctoral, sin la cual nunca hubiese podido realizar este doctorado.

Quiero agradecer a la Delegación Regional Bariloche de Parques Nacionales quienes otorgaron los permisos para realizar este trabajo en áreas protegidas dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi.

Esta Tesis fue financiada por los proyectos: FONCyT PICT 2011-2240, FONCyT PICT 2007-1258, FONCyT PICT 2014-1002 y UNC B163.

RESUMEN

Los arroyos de montaña que reciben agua de deshielo (nieve o de glaciares) son particularmente vulnerables al cambio climático global y a los factores de estrés asociados, ya que están fuertemente aislados y fragmentados en el paisaje terrestre. A medida que los glaciares retroceden, nuevos paisajes y arroyos glaciares emergen. La evolución de estos cursos de agua y sus zonas ribereñas reflejan las interacciones entre el suministro de sedimentos, el régimen del caudal, y la vegetación. El paisaje norpatagónico muestra profundos cambios en la estructura de su paisaje a causa del cambio climático. La continua recesión de los glaciares y las numerosas alteraciones en la estructura del bosque (colonización post-retracción glaciaria, sequías, incendios) afectan a las condiciones físicas, biogeoquímicas y ecológicas en los ríos y arroyos de montaña, con implicancias para la composición de la comunidad acuática y la productividad del ecosistema. En la presente tesis se propuso analizar los distintos ambientes lumínicos que se producen como consecuencia de la retracción glaciaria (con mayor o menor ingreso de arcillas) y debidos a diferentes estructuras del bosque. Estas condiciones lumínicas generarían condiciones contrastantes en la relación luz: nutrientes que se trasladarán a la estequiometría de los productores y de toda la cadena trófica. Por lo tanto, el objetivo general fue analizar cómo el cambio climático afectará a la dinámica estequiométrica mediada por la relación luz: nutrientes en arroyos glaciares. Para ello, combinando trabajos de campo con experimentación *in situ*, se estudiaron las relaciones elementales C:N:P en productores y macroinvertebrados en ambientes lóticos norpatagónicos frente a diferentes condiciones de luz: nutrientes, afectados directamente por la concentración de arcillas glaciares o indirectamente por cambios en la estructura del dosel.

La Tesis fue organizada en seis capítulos. En el primer capítulo se presentan y se introducen los conceptos teóricos enfocándolos hacia la pregunta de esta Tesis; asimismo se presentan los objetivos generales-específicos, y las hipótesis. En el segundo capítulo se describe el contexto del ambiente glaciario del Monte Tronador y se caracteriza el área de estudio. En el tercero, se analiza el efecto de las arcillas glaciares sobre la relación luz: nutrientes y cómo se afectan las funciones fotosintéticas y las relaciones elementales de los productores primarios de ambientes lóticos sin dosel arbóreo. En el cuarto se analiza el efecto de diferentes tipos de dosel arbóreo sobre la actividad fotosintética y la estequiometría de los productores primarios acuáticos de arroyos de montaña. En el quinto capítulo, se determina cómo se ve afectada la diversidad y composición elemental del ensamble de macroinvertebrados bentónicos frente a diferentes condiciones luz: nutrientes de su alimento (productores primarios del perifiton). Por último, en el sexto capítulo se incluyen las conclusiones finales de la Tesis.

En dos arroyos glaciares de bajo orden y libres de dosel, localizados en el Monte Tronador (Patagonia, Argentina) se analizó cómo la carga de arcillas glaciares influye en la relación luz: nutrientes afectando a los parámetros fotosintéticos de las algas del perifiton y la relación carbono: fósforo (C:P) de los productores primarios. En estos arroyos se llevaron a cabo estudios a campo y además, se realizó un experimento de colonización *in situ* con tres tratamientos de luz diferentes. En cada muestreo y en el experimento, se estimaron parámetros lumínicos y químicos de los ambientes. La biomasa perifítica (tanto en valores de concentración de clorofila *a* como en contenido de carbono) en los arroyos y en el experimento se relacionó directamente con la turbidez (carga de arcilla en suspensión). Los parámetros fotosintéticos variaron de manera similar registrándose un aumento de la eficiencia en la transferencia de electrones (ETR) por centro reactivo en el arroyo más turbio y una reducción en el arroyo más

claro. Como consecuencia de esta diferencia en la fijación de C, la relación C:P del perifiton varió directamente con la turbidez. Los resultados obtenidos sugieren que un aumento en el derretimiento de los glaciares, con un consecuente incremento de arcillas glaciares prevendría a los productores primarios de la fotoinhibición crónica a la que están expuestos los arroyos libres de dosel.

Los arroyos andinos cubiertos por dosel (bosque de *Nothofagus* fundamentalmente) estarán influenciados por cambios que puedan ocurrir en la estructura del bosque como consecuencia del cambio climático. Por ello, se propone que los futuros cambios climáticos que alteren la composición y estructura del bosque afectarán a la producción primaria y la estequiometría del perifiton en arroyos de bajo orden a través de modificaciones en la estructura del dosel. Con la finalidad de poner a prueba esta hipótesis, se realizó un estudio en campo de cuatro arroyos de montaña con diferentes niveles de dosel. Asimismo se llevó a cabo un experimento a campo en el que se manipularon las condiciones de luz durante 4 meses. Por último, se vincularon los resultados obtenidos con los escenarios futuros de cambio climático (cerca de futuro: 2015-2039 y futuro lejano: 2075-2099) predichos por el Grupo Intergubernamental de expertos sobre el Cambio Climático (IPCC). Se observó que la biomasa, los parámetros fotosintéticos y el contenido elemental del perifiton exhibieron una relación en forma de campana con la disponibilidad de luz, que era, a su vez, dependiente de la cobertura del dosel. Por lo tanto, las condiciones de luz intermedias resultaron en un escenario óptimo para la fotosíntesis de los productores primarios del perifiton; sin embargo, estas zonas intermedias con dosel disminuirán de acuerdo con los modelos de cambio climático. Finalmente los datos obtenidos permiten predecir cambios en la estequiometría del arroyo debido a las variaciones en la fotosíntesis y la composición elemental del perifiton como resultado de las modificaciones en la estructura del bosque.

Las modificaciones en las condiciones lumínicas a causa del ingreso de arcillas glaciares conllevan cambios significativos en la calidad del perifiton como recurso alimentario (debido a la variación en la composición elemental) y esto afectará al ensamble de macroinvertebrados. Al mismo tiempo el ambiente glaciario resulta hostil para los macroinvertebrados bentónicos debido al alto contenido en sólidos en suspensión. Para realizar el estudio de la estequiometría de niveles tróficos diferentes, se realizaron muestreos en los arroyos glaciares del Monte Tronador, en donde se colectaron durante 4 años y en diferentes períodos muestras de perifiton y de macroinvertebrados bentónicos. Asimismo se realizó un experimento a campo en el que se manipularon las condiciones de luz para observar los cambios estequiométricos en los pastoreadores resultantes de la condición elemental del recurso. El arroyo más claro tuvo mayor densidad y diversidad de macroinvertebrados que el arroyo más turbio. La diversidad de macroinvertebrados del arroyo más claro estuvo positivamente afectada por la temperatura del aire y negativamente por la precipitación. Asimismo las precipitaciones afectaron la abundancia del grupo funcional más abundante en el arroyo, los pastoreadores. *Meridialaris chiloeensis* y *Notoperla magnaspina* fueron los pastoreadores más abundantes, cuyas densidades fueron afectadas negativamente por las precipitaciones y positivamente por la abundancia de su recurso alimentario (algas). La calidad del recurso alimentario dependió de la disponibilidad lumínica y la consecuente relación luz:nutrientes tanto en el campo como en el experimento. La regulación homeostática de la composición elemental de los pastoreadores dependió indirectamente de las condiciones lumínicas, debido a que el nivel de desbalance obedeció a la fijación de carbono de los productores primarios y a las relaciones con los otros elementos (N y P).

La conclusión final de esta Tesis señala que los cambios en las condiciones lumínicas en los arroyos norpatagónicos, producidos por las arcillas en suspensión o por la estructura del dosel, generan una serie de cambios en el mecanismo fotosintético de los productores primarios; y en la estequiometría y la composición comunitaria del perifiton. Asimismo, estos cambios implican diferentes calidades de alimento que influyen sobre niveles tróficos superiores como los consumidores primarios.

ABSTRACT

Streams that receive meltwater are particularly vulnerable to global climate change and associated stress factors, as they are relatively isolated and fragmented in the landscape. As glaciers retreat, new glacial streams and landscapes emerge. The evolution of these watercourses and the associated riparian zones reflect the interactions between sediment supply, flow, and vegetation. The North Patagonian landscape shows changes in the structure of the landscape because of climate change. The continuing recession of glaciers and the changes in forest structure affect the physical, biogeochemical and ecological conditions in the rivers and mountain streams, with implications for the composition of the aquatic community and ecosystem productivity conditions. This Thesis analyzes the change in light conditions that occur as a result of glacier shrinkage (due to clay inputs) and forest structure. Under these scenarios, light climate will generate contrasting light: nutrient conditions that will drive the elemental stoichiometry of the producers and consumers in the whole river food web. Therefore, the aim of this Thesis was to analyze how climate change will affect the stoichiometric dynamics mediated by light: nutrient relationship in glacial streams. For this purpose, I combined field studies with *in situ* experimentation, analyzing elemental C:N:P ratio of primary producers and macroinvertebrates under different light: nutrients conditions, in North Patagonian lotic environments. These conditions will be affected directly (concentration of glacial clay) or indirectly (changes in the canopy structure) by climate change.

The Thesis was organized into six chapters. The first one presents theoretical concepts focusing towards the main question of this thesis. The general and specific objectives and predictions are also presented. The second chapter describes the glacial environments of Mount Tronador in order to characterize the study area. In the third chapter, the effect of glacial clay on the light: nutrient ratio is analyzed and how these changes affect the photosynthetic functions and elemental ratio of primary producers of the periphyton in canopy-free lotic environments. In the fourth chapter the effect of different structures of the canopy on the photosynthetic activity and stoichiometry of aquatic primary producers of mountain streams is analyzed. In the fifth chapter, the effect of different food qualities (periphyton primary producers), due to light: nutrients conditions, on the diversity and elemental composition of benthic macroinvertebrate as consumers, were analyzed. Finally, the sixth chapter includes the final conclusions of the Thesis.

The influence of glacial clay loading and its effect on the light: nutrient ratio, photosynthetic parameters and the carbon: phosphorus (C:P) elemental ratio of periphytic primary producers was analyzed in two canopy-free streams that receive water with contrasting amounts of glacial clay from the glaciers of Mount Tronador (Patagonia, Argentina). In these streams I carried out a fieldwork and an *in situ* experiment of colonization with three different light treatments. Each sampling date and during the experiment, chemical and light parameters were estimated. The periphytic biomass (chlorophyll a and carbon concentrations) in streams and in the experiment was directly related to turbidity (suspended clay). Photosynthetic parameters varied similarly because of an increase in the efficiency of electron transfer rate (ETR) per open reactive centre in the more turbid stream, and a chronic photoinhibition of photosystem II in the clearer one. As light in both streams and in the experiment increased a decrease in periphyton C:P was observed, due to the differential C fixation. These results suggest that an increase in glacial melting with its concomitant increase in glacial clay load should protect primary producers against high irradiances, and consequently from chronic photoinhibition that are exposed in canopy-free streams.

Closed canopy Andean streams (mainly by *Nothofagus* forest) will be influenced by changes that may occur in the forest structure as a result of climate change. Therefore, in this chapter I hypothesize that future climate changes that alter the composition and forest structure will, in turn, affect primary production and stoichiometry of periphyton in low order streams through changes in light. In order to test this hypothesis, I conducted a field study in four mountain streams with different levels of canopy cover and also a field experiment in which light conditions were manipulated during 4 months. Finally, the obtained results were linked to future climate change scenarios (near future: 2015-2039 and far future: 2075-2099) predicted by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). The results showed that primary producers' biomass (as chlorophyll *a*), photosynthetic parameters and elemental content of periphyton exhibited a bell-shaped relationship with light availability, which was, in turn, dependent canopy cover. Thus, intermediate light resulted in optimal conditions for primary producers' photosynthesis; however, these intermediate canopied zones are predicted to decrease in the future according to climate change predictions. Therefore, we predict changes in stream ecosystem stoichiometry due to variations in primary producers' photosynthesis and periphyton elemental composition as an outcome of forest structure modifications due to climate change.

Glacial streams are considered harsh environment for macroinvertebrates due to high content of suspended clay and low temperatures. Here I hypothesize that changes in light conditions due to glacial clays loads will also affect the quality of periphyton as food source (due to variation in the elemental composition) and, in turn, will affect the macroinvertebrates as consumers. Macroinvertebrates and periphyton samples were obtained from two glacial streams of Mount Tronador in different periods during 4 years, in order to study the elemental composition of the different trophic levels. I also carried out a field experiment in which light conditions were manipulated to determine the stoichiometric changes resulting from the elemental condition of grazers' resource. The clearest stream had greater density and diversity of macroinvertebrates than the more turbid stream. The diversity of macroinvertebrates of the clearest stream was strongly positively affected by air temperature and negatively affected by precipitation. Rainfall also affected the abundance of the most abundant functional group in the stream, the grazers. The ephemeropteran *Meridialaris chiloeensis* and the plecopteran *Notoperla magnaspina* were the most abundant grazers, whose densities were negatively affected by rainfall and positively by the abundance of their food source (algae). The quality of food resource in the stream and in the experiment varied according to light availability and consequently to the light: nutrient ratio. Homeostatic regulation of the elemental composition of grazers was indirectly associated to light conditions, because the level of imbalance was related to carbon fixation of primary producers and its relation N and P.

The final conclusion of this Thesis indicates that changes in light availability in North Patagonian streams due to suspended clay or canopy structure cause variations in the photosynthetic mechanism of primary producers and in the stoichiometry and periphyton community composition. These changes also imply changes in food quality and therefore affect higher trophic levels as consumers.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL Y MARCO TEÓRICO

Panorama Global: Cambio Climático y los Glaciares

El clima de la Tierra siempre ha sido dinámico y como consecuencia de alteraciones en el balance energético, está sometido a variaciones en todas las escalas temporales, desde decenios a miles y millones de años. Estos cambios reciben el nombre de cambio climático o variabilidad natural del clima, pues se produce constantemente por causas naturales (Crowley y North, 1988). Tales cambios se producen a muy diversas escalas de tiempo y sobre todos los parámetros meteorológicos: temperatura, presión atmosférica, precipitaciones, nubosidad, entre otros. Actualmente se utiliza el término cambio climático para referirse a un cambio de clima atribuido directa o indirectamente a la actividad humana que altera la composición de la atmósfera y que se suma a la variabilidad natural del clima observada durante períodos comparables (Magrin et al., 2014). Recientemente los fenómenos que han cobrado mayor relevancia son el calentamiento global y la alteración de los patrones de precipitación, ya que estos poseen, a su vez, un alto grado de impacto sobre las actividades humanas y el medio ambiente.

En términos generales según el último informe del Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC, Magrin et al. (2014)) la temperatura ha aumentado globalmente. En los últimos 100 años, la temperatura media de la superficie de la Tierra ha aumentado en 0,74°C (Wang, 2014), sin embargo el incremento no es parejo en todo el globo. Esta variabilidad radica principalmente en las diferencias topográficas regionales, en la presencia de cadenas montañosas, en la influencia climática de los océanos, entre otros aspectos. A pesar de estas diferencias, el coeficiente de





aumento de la temperatura media de la superficie de la Tierra en los últimos 50 años prácticamente duplicó el de los últimos 100 años.

Las observaciones realizadas por el IPCC muestran que en la actualidad ocurren cambios en la cantidad, intensidad, frecuencia y tipo de precipitación. La probabilidad de precipitación en forma de lluvia, y no de nieve, aumenta, sobre todo en otoño y primavera al principio y al final de la temporada de nevadas, y en zonas donde las temperaturas se acercan a la congelación (Magrin *et al.*, 2014). Sin embargo, los cambios locales y regionales en cuanto al carácter de la precipitación dependen mucho también de los patrones de circulación atmosférica determinados por El Niño, la Oscilación del Atlántico Norte y otros patrones de variabilidad (Vera *et al.*, 2006). En consecuencia, los cambios en la temperatura y la precipitación derivan en cambios en el ciclo del agua. El calentamiento acelera la demanda hídrica en suelos y vegetación, e incrementa la posible incidencia y severidad de las sequías, que ha sido observada en muchas partes del mundo (Magrin *et al.*, 2014).

Los ambientes con hielo o glaciares son uno de los más vulnerables al cambio climático. Un glaciar es una masa de hielo lo suficientemente grande como para moverse debido a la fuerza ejercida por su propio peso pendiente abajo (Paterson y Cuffney, 2010). La vulnerabilidad de los glaciares al clima reside en las interconexiones entre forzantes atmosféricas, y por lo tanto en la acumulación/ derretimiento de nieve y hielo, el caudal de los arroyos, la calidad del agua y la hidrogeomorfología (hábitat físicoquímico) (Brown y Milner, 2012). Actualmente hay 690.000 km² de hielo, los cuales representan solo el 0.5% de la superficie terrestre (WGMS, 2012). En América del Sur hay 25.500 km² de glaciares que se encuentran distribuidos a lo largo de la cordillera de Los Andes: desde glaciares tropicales, pasando por penitentes y campos de hielos hasta los glaciares temperados de Tierra del Fuego (WGMS, 2012; Zemp *et al.*, 2015). Una de las consecuencias más evidentes del incremento de la temperatura y la modificación de los patrones de precipitación, es la pérdida de masa de los glaciares, sobre todo durante la primavera y principalmente sobre glaciares temperados (aquellos cuya temperatura es de 0°C). En los últimos años la tasa de fluctuaciones de los glaciares se ha acelerado (WGMS, 2012; Zemp *et al.*, 2015). Sin embargo cabe destacar que los tiempos de respuesta de los glaciares a cambios en el clima varían de 5 a más de 100 años (Salinger *et al.*, 2008). No obstante, los años más cálidos (décadas de 1980 y 1990) corresponden a los balances de masa (acumulación/ derretimiento de nieve) más negativos y a una aceleración en la pérdida de volumen de los glaciares (Dyurgerov,



2003). Durante la última década (2001-10) el balance global de masas fue el más negativo de todas las décadas desde que se tiene registro, entre -544 y -809 mm e.a. $^{-1}$ (milímetros equivalente de agua, en un año) (Zemp et al., 2015); lo que sería aproximadamente equivalente a una tasa de pérdida de entre 494 y 735 kg m $^{-2}$ de hielo. Durante este mismo período (2001-10) la pérdida de hielo fue de 500 Gt a $^{-1}$ (giga toneladas por año) lo que significó un incremento de $1,37$ mma $^{-1}$ (milímetros por año) en el nivel del mar. Si se considera el período de tiempo desde que se hacen mediciones en glaciares (1970-2010) el aumento del nivel del mar fue de 33 mm a $^{-1}$ (WGMS, 2012). Asimismo la aceleración del cambio de volumen glaciar muestra una coherencia con otros cambios globales en la criósfera como son: la reducción de la superficie y espesor del hielo marino (Morris y Vaughan, 2003), el aumento de temperatura en el permafrost y el deshielo del mismo, la aceleración del movimiento y desintegración de las capas de hielo polares, y glaciares en Groenlandia y en la Antártida (Braun y Schneider, 2000; Pritchard y Vaughan, 2007).

El incremento del derretimiento por el aumento de la temperatura, principalmente en el periodo estival, es uno de los principales responsables de la pérdida de masa de los glaciares (Paterson y Cuffney, 2010). Los cambios sutiles en los patrones de las nevadas, pueden tener un efecto sensible sobre la posición de la línea de nieve regional, y por ende, de la línea de equilibrio (ELA, isoterma de 0°C), forzando la retracción hacia zonas más elevadas y por ende con menor temperatura. De esta forma el glaciar se retrae hasta un nuevo equilibrio entre formación y derretimiento de hielo. En pocas palabras, el glaciar seguirá perdiendo masa (hielo) hasta desaparecer, a menos que cambien las condiciones reinantes (clima) (Bahr, 1997).

Los glaciares de valle y templados son los más sensibles al cambio climático debido a su susceptibilidad a los cambios de temperatura y precipitación. Esta gran sensibilidad es una consecuencia de las propiedades típicas de una superficie de hielo en proceso de fusión o de nieve derretida. Debido a que la temperatura de la superficie se mantiene durante la fusión, el aporte de energía extra, ya sea por radiación o por el movimiento del aire, incrementa y/o acelera el proceso de derretimiento (Oerlemans, 1994).



Ecosistemas afectados por cambios en los Glaciares

Los cambios en la dinámica de los glaciares modifican el ambiente acuático y terrestre que los rodea. En función de su alta sensibilidad climática y del bajo impacto antrópico que poseen (en general están en lugares aislados y de difícil acceso), las cuencas de glaciares han sido propuestas como sistemas indicadores de alerta temprana de la respuesta hidrológica y ecológica al cambio climático (Nijssen *et al.*, 2001). Sin embargo, pocos estudios integrales, por ejemplo: Milner *et al.* (2009) y Hannah *et al.* (2007), han tratado de vincular los procesos del clima-hidrología-ecología en las cuencas fluviales de glaciares (Figura I.1).

El régimen de caudal de un arroyo glaciar está determinado por el glaciar, con un pico de deshielo entre mediados y finales del verano Milner *et al.* (2009). Los glaciares crean un fuerte patrón de flujo de agua de deshielo (temperatura promedio que va desde 1°C hasta casi 10°C), el cual se puede ver modificado por las marcadas variaciones entre años en el tipo y cantidad de precipitación Hannah *et al.* (2007). Además las características del manto de nieve, las tasas de ablación de la nieve y hielo, contribuyen a la dinámica de la corriente glaciar (Smith *et al.*, 2001). El patrón de descarga a lo largo del año, teniendo en cuenta que los máximos caudales son durante el verano, se debe a la compensación entre el almacenamiento de las precipitaciones sólidas invernales y el deshielo estival (balance de masas del glaciar). Por lo tanto las mayores fluctuaciones de caudal ocurren durante el verano y ocasionalmente durante la primavera (Smith *et al.*, 2001). A lo largo del resto del año el caudal se estabiliza ya que la tasa de deshielo disminuye y el único factor de variación está dado por la precipitación Milner *et al.* (2009).

La dinámica de los arroyos glaciares se encuentra íntimamente relacionada con la mecánica que poseen los glaciares (Figura I.1). Por lo tanto estos arroyos estarán supeditados a la relación entre los glaciares, el clima de la región y los cambios que ocurran (Smith *et al.*, 2001; Slemmons *et al.*, 2013). Las condiciones climáticas determinan el almacenamiento neto de la nieve y el hielo permanente dentro de la cuenca; por lo tanto, las variaciones de caudal interanual reflejan las fluctuaciones del balance de masa del glaciar. El balance anual de masa (relación acumulación/derretimiento) es muy importante para predecir las tendencias de los caudales en cuencas glaciares; por ejemplo, los períodos con balance de masas negativos y sostenidos resultaron en aumentos significativos del caudal (Hannah *et al.*, 2007). A medida que se incrementa la pérdida de masa de los glaciares, las cuencas de



los arroyos que reciben deshielo lentamente cambiarán a estar netamente subsidiadas por las lluvias (Milner *et al.*, 2009). Esto hará que se altere el régimen de estos arroyos a lo largo del año, incluso llevando a algunos cursos a ser temporarios. Sin embargo, la magnitud y la velocidad de respuesta de los glaciares individuales al cambio climático es difícil de predecir.

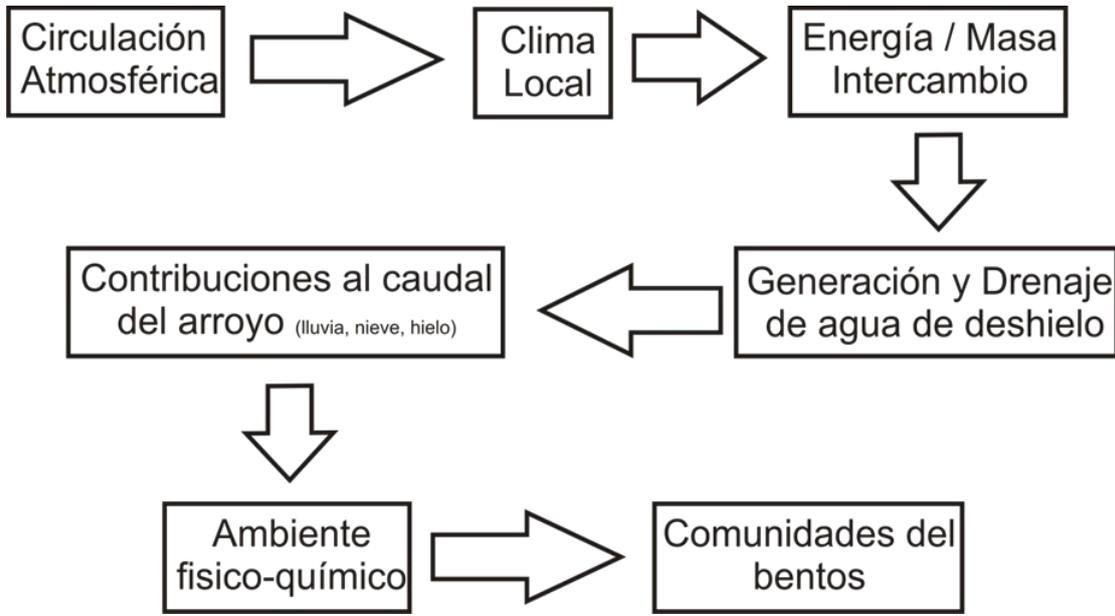


Figura I.1: Diagrama de flujo de los enlaces en el proceso en cascada clima-hidrología-ecología dentro de un río subsidiado por un glaciar (tomado de Hannah *et al.*, 2007).

Las alteraciones en el flujo de agua de deshielo también estarán acompañadas por cambios en la composición química del agua. La concentración de nutrientes en estos ríos y arroyos, nitrógeno (N), carbono (C), pero principalmente fósforo (P), y hierro (Fe) está determinado en gran proporción por la constitución geológica de la cuenca (Smith *et al.*, 2001). Los nutrientes (P y Fe) quedan disponibles como consecuencia del proceso normal de erosión producido por el avance del glaciar (deslizamiento basal). La mayor parte de los fragmentos se desintegra durante el avance del glaciar, produciéndose partículas de tamaño pequeño, las cuales son comúnmente llamadas arcillas glaciares (o harina de roca; principalmente de tamaño arcilla, aunque ocasionalmente hay arena y limo). Estas son acarreadas por el sistema de drenaje glaciar, que termina derivando en los arroyos de agua de deshielo. Durante los últimos 20 años se ha intensificado el retroceso, dejando al descubierto gran cantidad de depósitos de arcilla glaciar que se encontraban en la base del glaciar. Por otra parte,



tanto la nieve como el hielo tienen un papel importante en el ciclo del nitrógeno como agente de retención de las precipitaciones de nitrógeno (Wolff, 2013) y que posteriormente pueden ser liberadas durante el deshielo Slemmons *et al.* (2013). Por último, los glaciares son fuente de materia orgánica disuelta (C) que resulta ser antigua y muy lábil (Hood *et al.*, 2009; Fellman *et al.*, 2015).

En escalas de tiempo del orden de 10 a 100 años, las interacciones entre avance glaciar y/o el retroceso, la colonización y el establecimiento de vegetación y los procesos hidrológicos determinan el carácter físico del río glaciar y sus márgenes (Smith *et al.*, 2001). Todos estos factores están influenciados por la variabilidad del clima, pero su tasa de respuesta varía de factor en factor, mientras que la vegetación responde de manera relativamente lenta, los procesos hidrológicos responden más rápidamente (Smith *et al.*, 2001). El uso de la ventana de oportunidad para colonizar nuevas áreas depende exclusivamente de las características intrínsecas de las especies que componen el borde del bosque. Asimismo son de gran relevancia las características climáticas que favorezcan el crecimiento y reproducción de las especies que conforman el límite del bosque. A medida que se incrementan las temperaturas, las regiones superiores de las montañas se vuelven más favorables climáticamente (Donato, 2013). Sin embargo el movimiento del bosque, en su límite altitudinal (comúnmente llamado *línea de árboles*) se ve limitado por factores geológicos y climáticos regionales (por ejemplo, variación de la precipitación y temperatura), por lo que predecir el movimiento de las especies arbóreas requiere más que un análisis climático global. Sin lugar a dudas la variación de la posición y composición del bosque en regiones montañosas donde había o aún existen glaciares, alterará la dinámica y el metabolismo de los arroyos. La modificación de la disponibilidad de luz, la diversidad de macroinvertebrados, el ingreso de materia orgánica alóctona, son algunas de las características de los ambientes lóticos que se verían afectadas.

Efecto sobre las comunidades de los arroyos glaciares

En los arroyos y ríos, las superficies de las rocas son colonizadas por una matriz orgánica compuesta por varios grupos de microorganismos heterótrofos (por ejemplo, bacterias, virus, hongos, protistas), que obtienen su materia orgánica directamente como consumidores secundarios (Rott *et al.*, 2006a). Las algas también colonizan esta matriz, y en conjunto, estos heterótrofos y autótrofos, se refieren comúnmente como una biopelícula bentónica (*biofilm*), que también es conocida como perifiton (Lock *et al.*,



1984; Wetzel, 2001). Los organismos heterótrofos juegan un papel muy importante en la vinculación de los nutrientes y el ciclo de la materia orgánica (Peterson y Stevenson, 1992; Logue *et al.*, 2004). Los cambios en la diversidad y abundancia de organismos frente a las alteraciones en los procesos hidrológicos podrían tener implicancias generalizadas para las redes tróficas de ríos alimentados por glaciares.

Los productores primarios en arroyos glaciares libres de dosel arbóreo constituyen la más importante fuente de energía para los ecosistemas lóticos (Hieber *et al.*, 2003; Rott *et al.*, 2006a). Diversos autores (Rott *et al.*, 2006a; Brown *et al.*, 2007; Milner *et al.*, 2009), han sugerido que la riqueza de algas aumenta a medida que disminuye el porcentaje de aporte de agua de origen glaciar. Variaciones temporales en la descarga, la cobertura de nieve y hielo, la temperatura del agua, y la hidroquímica producen cambios en la biomasa algal (Uehlinger y Naegeli, 1998; Rott *et al.*, 2006a). Sin embargo la interferencia lumínica producida por la arcilla glaciar (Davies-Colley y Smith, 2001) o por la vegetación riparia (Stovall *et al.*, 2009) es un fenómeno que también moldea a la comunidad de autótrofos del perifiton.

Los productores primarios del perifiton pueden desarrollarse en condiciones que incluyen un amplio rango de condiciones de luz: desde totalmente expuestos a la luz (radiación fotosintéticamente activa -RFA- y radiación ultravioleta -RUV-), en aguas transparentes; hasta profundas y turbias aguas, o con un dosel tupido. Existe un rango de bajos valores de irradiancia en el cual la fotosíntesis aumenta de forma lineal saturándose y llegando a una asíntota (Falkowski y Raven, 2007), de prolongarse esta exposición puede ocurrir un fenómeno conocido como fotoinhibición (Hill *et al.*, 1995; Raven, 2011).

Debido a que en los productores primarios la fijación de carbono (C) varía en torno a la disponibilidad lumínica (Hill *et al.*, 1995), la composición elemental de los productores primarios es más fluctuante que la de los consumidores (Diehl *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2012). La productividad de los ecosistemas acuáticos está gobernada principalmente por los ingresos de luz y nutrientes (Hessen *et al.*, 2002; Diehl *et al.*, 2005). Para poder estudiar este tipo de balance, la estequiometría ecológica establece un marco conceptual, que considera el equilibrio relativo de los elementos químicos y el balance energético en las interacciones ecológicas (Reiners, 1986; Elser *et al.*, 1996; Elser y Urabe, 1999; Elser *et al.*, 2000; Sterner y Elser, 2002). Asimismo brinda información sobre los mecanismos fisiológicos de los organismos, y permite descubrir cómo las relaciones de los elementos químicos en los organismos modelan su ecología.



Urabe y Sterner (1996) formularon la Hipótesis Luz-Nutrientes que relaciona el suministro de dos recursos clave, la luz y el P, con el contenido elemental de los productores primarios. En particular, la Hipótesis Luz-Nutrientes (*Light-nutrient hypothesis, LNH*) predice que los cambios en la luz alteran el balance de C: nutrientes en los productores (Sterner *et al.*, 1997). El concepto general indica que si la luz es más limitante (Figura I.2), la composición elemental de los productores algales será más rica en N y P en relación con el C (Hessen *et al.*, 2002). A su vez, menores relaciones C: nutrientes resultan en un incremento de la calidad de alimento para los pastoreadores de algas y en una mayor eficiencia de transferencia trófica (Elser *et al.*, 2003). En tal sentido, se ha indicado que los cambios climáticos, particularmente el incremento en la temperatura del agua, resultarían en un incremento en las relaciones C:P de los productores primarios (van de Waal *et al.*, 2010). Asimismo, dentro de las posibles

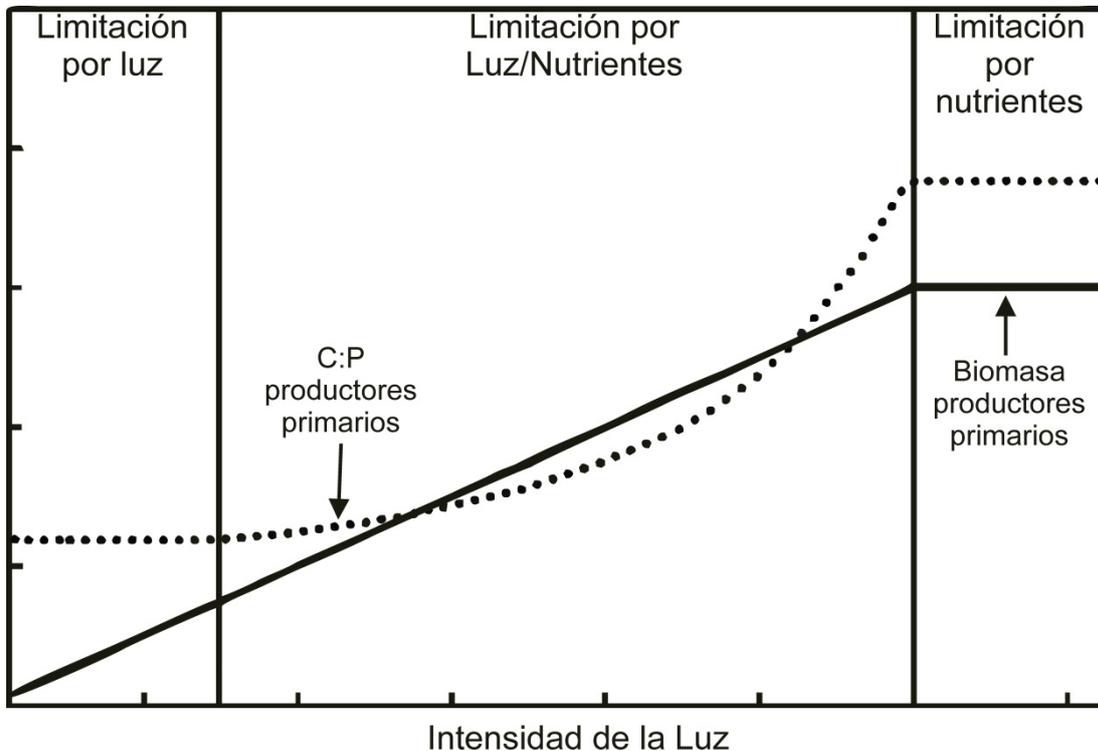


Figura I.2: Hipótesis Luz: Nutrientes (modificado de Urabe y Sterner, 1996). Vinculación de la biomasa y relación C:P de los productores primarios con la disponibilidad de luz. Este modelo no incorpora la retroalimentación entre herbívoros y biomasa algal. La escala del eje Y no fue especificada ya que varía según el parámetro.

consecuencias en las comunidades acuáticas (Figura I.3) ocurriría un reemplazo en los niveles tróficos superiores (herbívoros y carnívoros) de especies de alta demanda de P hacia especies menos demandantes (Laspoumaderes *et al.*, 2013). La relación C:P es determinante en el paso de energía en redes tróficas acuáticas (Hessen y Elser, 2005), ya que condiciona el crecimiento y reproducción de herbívoros y detritívoros, afectando así



la demografía y dinámica de las poblaciones, las interacciones entre especies y la estructura de las comunidades (Moe *et al.*, 2005).

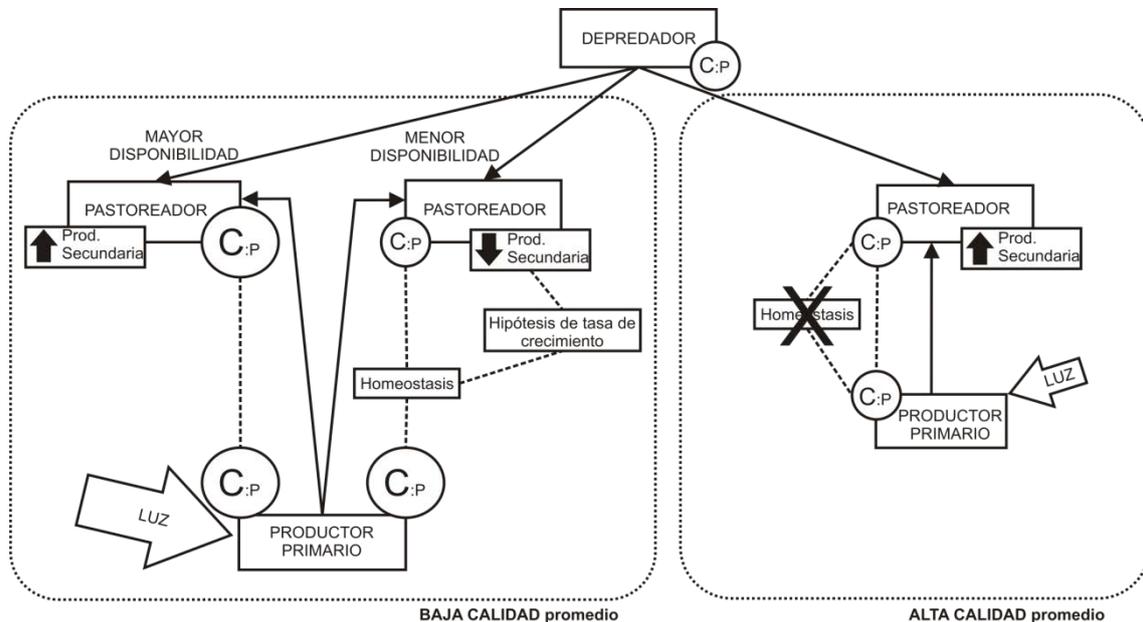


Figura I.3: Gráfico conceptual, del efecto de la luz sobre los productores primarios (hipótesis luz: nutrientes), y la modificación en la calidad del alimento para los pastoreadores (relación C:P). Así la disminución en la calidad de alimento de los pastoreadores, implicará un gasto energético en el balance de nutrientes (homeostasis), disminuyendo la producción secundaria. A su vez la disminución en la calidad del alimento afectará la abundancia de pastoreadores, disminuyendo la disponibilidad de recursos para los carnívoros.

En particular, en la región andino-patagónica se ha determinado que la relación luz: nutrientes resulta muy importante para la dinámica ecosistémica lacustre (Balseiro *et al.*, 2004; Balseiro *et al.*, 2007) y la misma se ve afectada por el ingreso de arcillas glaciares (Laspoumaderes *et al.*, 2013) determinando profundos cambios en autótrofos y heterótrofos (Hylander *et al.*, 2011; Laspoumaderes *et al.*, 2013). Asimismo, otros eventos climáticos como, por ejemplo el viento, fueron observados también como responsables de cambios en esta relación luz: nutrientes (Modenutti *et al.*, 2008).

Basándome en estas evidencias previas la presente tesis tuvo como pregunta central determinar cómo el cambio climático afectará a la dinámica estequiométrica mediada por la relación luz: nutrientes en arroyos glaciares. El primer escenario es de retracción glacial proponiéndose aumentos en el ingreso de arcillas glaciares afectará a la relación luz: nutrientes y a los productores primarios de los ambientes lóticos glaciares sin dosel arbóreo. El segundo escenario es de diferentes estructuras del bosque (mayor o menor cobertura boscosa) que afecta a los productores primarios lóticos en cuanto a su actividad fotosintética y su estequiometría. Por último, se propone analizar



el efecto de los cambios elementales de los productores sobre el nivel trófico superior, esto es los macroinvertebrados pastoreadores.



Objetivo General

Analizar cómo el cambio climático afectará a la dinámica estequiométrica mediada por la relación luz: nutrientes en arroyos norpatagónicos de montaña que reciben agua de deshielo. Para ello combinando trabajos de campo con experimentación “in situ”, se estudiaron las relaciones elementales C:N:P en productores y macroinvertebrados en ambientes lóticos norpatagónicos frente a diferentes condiciones de luz: nutrientes, afectados directamente (concentración de arcillas glaciares) o indirectamente (cambios en el dosel) por el cambio climático.

Objetivos Específicos

1. Determinar las variaciones estacionales en los ingresos de arcillas glaciares sobre sistemas lóticos del Monte Tronador.
2. Analizar la respuesta fotosintética y las relaciones elementales C:N:P de los productores primarios del perifiton frente a distintas condiciones de luz, dadas por el ingreso de arcillas.
3. Analizar el efecto producido por cambios en la estructura del dosel de la vegetación riparia de los arroyos de montaña sobre la respuesta fotosintética y la composición elemental de los productores primarios.
4. Determinar cómo se ve afectada la diversidad y composición elemental del ensamble de macroinvertebrados bentónicos frente a diferentes condiciones luz: nutrientes de su alimento (productores primarios del perifiton).

Hipótesis

- La retracción de los glaciares causará cambios en la relación luz: nutrientes en ambientes que reciben esas aguas y consecuentemente se afectarán las relaciones elementales de los productores.
- El nivel de cobertura del dosel determinará la disponibilidad de luz y la respuesta fotosintética y estequiométrica de los productores primarios del perifiton en arroyos de montaña de bajo orden.
- La distribución de los diferentes grupos de productores y macroinvertebrados serán afectados por los gradientes lumínicos y elementales.

Las hipótesis que se han planteado para cada objetivo se consignan en cada uno de los capítulos que integran la presente Tesis.

CAPITULO II

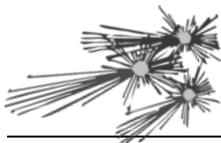
AREA DE ESTUDIO E INGRESO DE ARCILLA GLACIAR EN ARROYOS DEL MONTE TRONADOR



Introducción

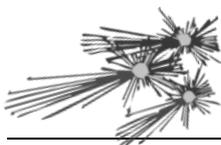
La calidad del agua de los ríos glaciares depende de los procesos propios del glaciar, de los procesos propios del río y de la influencia del paisaje adyacente. Los procesos propios del glaciar incluyen el movimiento y la hidrología del glaciar. Las tasas de abrasión de un glaciar dependen de las tasas de deslizamiento (Riihimaki *et al.*, 2005), que a su vez depende de la presión del agua subglaciar, y por lo tanto, su hidrología (Anderson *et al.*, 2004). Dentro del río los procesos incluyen la deposición y el arrastre de sedimentos producto de la erosión glaciar. Asimismo las reacciones biogeoquímicas que se llevan a cabo en el río y la geología del ambiente influirán cuantitativa y cualitativamente en la química final del agua. En general, el agua de deshielo se caracteriza por poseer bajas temperaturas, bajas concentraciones de iones solubles, altas concentraciones de sedimentos suspendidos, alta turbidez y una gran variabilidad en cuanto al contenido de nutrientes (Milner y Petts, 1994).

Los ríos glaciares poseen un mosaico espacio-temporal de hábitats físicos dado principalmente por la carga de sólidos en suspensión. La zona periglacial (zona liberada por el retroceso del glaciar) puede ejercer una influencia significativa en la concentración de sedimentos debido a la capacidad de almacenar y liberar sedimentos (Röthlisberger y Lang, 1987; Gurnell *et al.*, 1996; Paterson y Cuffney, 2010). Los sólidos en suspensión pueden influir en muchos aspectos físicos y químicos de los ríos



glaciares, y asimismo afectar diferentes procesos biológicos. Estos fenómenos son particularmente afectados por la turbidez. La turbidez es una propiedad óptica del agua, medida por la atenuación de la luz dispersada o absorbida por partículas suspendidas, y se mide típicamente en unidades nefelométricas de turbidez (con las siglas en inglés: NTU). Los ríos glaciares poseen una coloración “lechosa” por las arcillas que transportan en suspensión. La turbidez es estacionalmente alta durante los períodos de fusión del hielo y movilización de sedimentos glaciares, y esto reduce la claridad y aumenta la perturbación física por el arrastre. En general, la concentración de sedimentos en suspensión y la turbidez disminuyen con la distancia a los glaciares ya que las partículas van decantando durante su transporte; y la unión de arroyos tributarios no glaciares favorece la dilución de los sedimentos suspendidos. El sedimento más fino puede permanecer en suspensión varios cientos a miles de kilómetros incluso en los flujos de turbulencia bajas (Chikita *et al.*, 2002). La persistencia de sedimentos en suspensión dependerá de una combinación de factores globales y locales, tales como la distancia, la disponibilidad de sedimentos, el gradiente, la descarga, la variabilidad de descarga, y por las contribuciones de sedimentos por parte de otros afluentes.

Los sólidos en suspensión afectan principalmente a los productores primarios debido a que reducen la disponibilidad de luz y por lo tanto el potencial fotosintético, pueden producir daño abrasivo y reducir la capacidad de colonizar nuevos sustratos (Wood y Armitage, 1997). Estos cambios físicos afectan las interacciones entre las diferentes comunidades que residen en el río y a los ciclos de los nutrientes (Cuker, 1993; Kerr, 1995; Palmer *et al.*, 2009). Teniendo en cuenta que los ríos alimentados por glaciares poseen una biota única afectada por las condiciones físico-químicas creadas por las arcillas en suspensión (Hannah *et al.*, 2007; Milner *et al.*, 2009; Milner *et al.*, 2011) es necesario conocer la variabilidad de dichas condiciones para poder mejorar la comprensión de los impactos del cambio climático sobre los ríos glaciares. Por esta razón, en este capítulo proponemos describir el ciclo anual de las variaciones en los ingresos de arcillas glaciares sobre sistemas lóticos del Monte Tronador.



Área de Estudio

Caracterización del área de estudio: el Monte Tronador

El Monte Tronador ($41^{\circ}09'39''\text{S}$ $71^{\circ}53'15''\text{O}$) es un estrato volcán inactivo y en proceso de erosión (se estima que la última erupción fue en el Holoceno, >10000 años). El cono bien preservado fue el origen de una colada de lava andesítica posterior al último ciclo glacial datado después de 70.000-14.000 años atrás. La estratigrafía de la zona incluye rocas volcánicas (basaltos), granitos y piritizados, y rocas metamórficas silíceas (Chillrud *et al.*, 1994).

El Tronador, se encuentra en el norte de la Patagonia, en la frontera entre Chile y Argentina cerca de la ciudad de Bariloche, Río Negro (Figura II.1). Separa dos parques

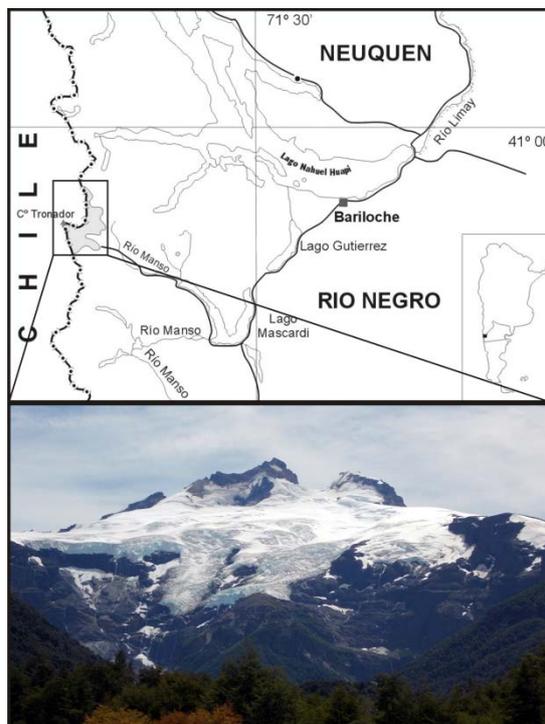
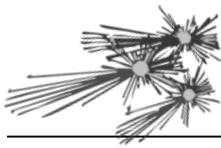


Figura II.1: Localización del Monte Tronador.

nacionales: el Vicente Pérez Rosales en la provincia de Llanquihue, Chile, y el Nahuel Huapi, en Río Negro, Argentina. Posee tres cimas: una argentina (pico argentino), de 3.200 msnm, una chilena (cumbre chilena), de 3.320 msnm y una fronteriza, entre ambos países, de 3.491 msnm. Está cubierto por doce glaciares con una superficie glaciaria total aproximada de 64 km^2 (Masiokas *et al.*, 2010a; Masiokas *et al.*, 2010b): por la vertiente argentina se encuentran: Cóndor, Frías, Alerce, Castaño Overo y Manso (Ventisquero Negro). Por la chilena, se encuentran los glaciares Verde, Vuriloches, Parra, Blanco, Mistral, Peulla, Norte y Casa Pangue (Figura II.2, Ruiz *et al.* (2016)). Los glaciares Casa Pangue, Verde y Manso alcanzan elevaciones más bajas y poseen lenguas cubiertas de escombros que se regeneran luego de caer por un empinado acantilado en torno a los 1500 m. Los glaciares restantes son en gran medida descubiertos y no descienden por debajo de los ~ 1500 m (Rabassa, 2010). Estas elevaciones están cercanas al límite del bosque de lenga (zona de *krummholz*) por lo que resulta poco esperable que se desarrollen bosques altos en zonas deglaciadas. Además a medida que retraen aún más, las zonas deglaciadas son cada vez más altas para el desarrollo de un bosque.



La línea de equilibrio (ELA) del Monte Tronador es de alrededor de los 2.000 msnm (Condom *et al.*, 2007; Carrasco *et al.*, 2008; Sagredo y Lowell, 2012); y las estimaciones del balance de masa basados en modelos numéricos indican que estos glaciares tienen una alta tasa de pérdida de masa, lo cual indica una alta variación entre el balance de acumulación y ablación (Leclercq *et al.*, 2012).

Cambios y Tendencias climáticas en la zona

El clima del norte de Patagonia Andina se caracteriza por una variación estacional en la precipitación, en gran parte modulada por la ubicación y la intensidad de los *westerlies* del hemisferio sur. Esta región posee un marcado gradiente de precipitación oeste-este, con una precipitación mayor a los 2000 mm anuales en el oeste y menos de 1000 hacia el este a causa de la cordillera (Villalba *et al.*, 2003). El clima de la región del Tronador es templado con influencia oceánica, donde la mayor parte de las precipitaciones caen predominantemente en invierno (Villalba *et al.*, 1990), las precipitaciones totales en el monte Tronador van entre 4000 a 6000 mm anuales, con una temperatura media anual entre $\sim -4^{\circ}\text{C}$ y -6°C (Ruiz *et al.*, 2015).

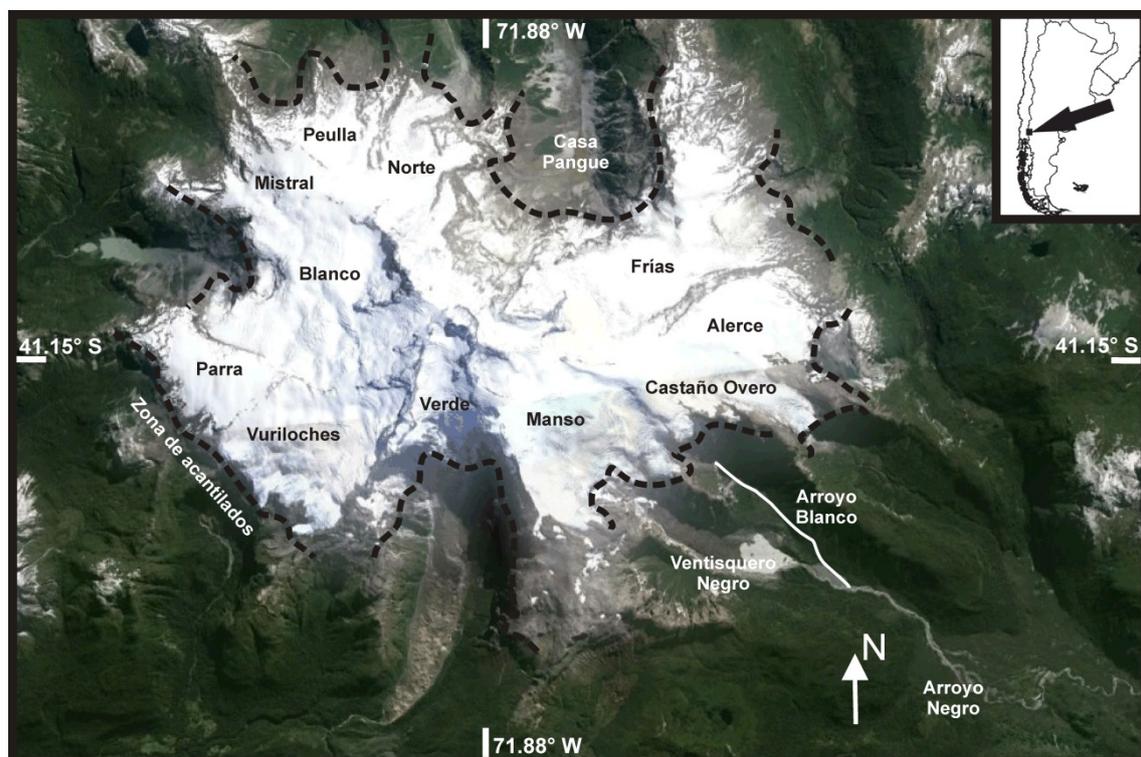
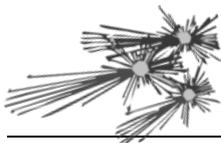


Figura II.2: Localización de los glaciares del Monte Tronador, las zonas con acantilados rocosos (~ 1500 m) y los arroyos que fueron estudiados.



En la región Patagónica la temperatura aumentó en forma estadísticamente significativa en sus valores medios en el centro de la región entre 0,5°C y 1°C; y 0,4°C en promedio para toda la Patagonia. Al contrario que en el resto del país, la temperatura máxima tuvo un aumento mayor que la mínima, asimismo el porcentaje de días con temperatura máxima ha aumentado en el mismo período (Barros *et al.*, 2013).

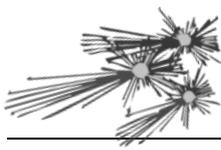
Las precipitaciones en la cordillera norpatagónica tuvieron un cambio negativo en el periodo 1960-2010 (Aravena y Luckman, 2009; Garreaud *et al.*, 2012; Barros *et al.*, 2013). Asimismo las tendencias hidrológicas de los ríos cuya fuente principal está sobre la cordillera, indican que hubo una importante disminución de la precipitación, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativa debido a la gran variabilidad interanual de los caudales (Barros *et al.*, 2013).

Las proyecciones climáticas regionales para América del Sur predicen una tendencia de calentamiento y una disminución de las precipitaciones durante el próximo siglo para el norte la Patagonia (Vera *et al.*, 2006; Marengo *et al.*, 2010). De acuerdo con el escenario A1B del IPCC, la precipitación anual habrá disminuido 15% a finales del siglo XXI, en comparación con el promedio 1980-1999. La disminución prevista para los meses de verano (DEF) es más fuerte que en los meses de invierno (JJA), con disminuciones de precipitación de 30% y 5-10%, respectivamente. Para el período 2080-2099, la temperatura media anual se prevé que sea 2°C más alta que en el período de referencia 1980-1999. Una vez más, los cambios en el verano (+2,5°C) son más fuertes que en invierno (+1,5°C) (Barros *et al.*, 2013). Con lo cual se espera que para el 2100 los glaciares del Tronador hayan perdido más del 80% de su volumen actual y hayan retrocedido hacia la cumbre del monte Tronador (Pachauri y Reisinger, 2007).

Métodos

Arroyos bajo estudio

Los arroyos Blanco y Negro forman parte de la cuenca superior del río Manso Superior, naciendo ambos en la pendiente SE del monte Tronador, con una orientación NO-SE (Figura II.3). El arroyo Blanco se origina alrededor de los 1400 msnm (Figura II.4 A) por la conjunción de cascadas provenientes del extremo S del glaciar Castaño Overo (localizado a 2000 m). Luego corre a través de un valle con vegetación dispersa, compuesta mayormente por lenga achaparrada (*Nothofagus pumilio*). Este arroyo posee una cuenca aproximada de 7,34 km², de los cuales el 38,4% está cubierto por glaciares. Sus aguas son generalmente transparentes.



Por otro lado, el arroyo Negro, de aguas turbias (blancuzcas por la arcilla glaciar en suspensión), es el único efluente del lago Ventisquero Negro, localizado a unos 1000 m de altitud. Este arroyo posee una cuenca con una superficie de 12,84 km², la cual posee 6,66 km² de glaciares (glaciar Manso y Ventisquero Negro) que representan casi el 52% de la cuenca. Asimismo el lago que alimenta este arroyo posee una superficie de 0.62 km² (al 2016) y una profundidad máxima de 29 metros. El lago es producto del deshielo del glaciar Ventisquero Negro. Este glaciar es alimentado por las constantes avalanchas de hielo que se desmoronan desde el glaciar Manso, localizado a 700 metros más arriba, y por los derrumbes de material rocoso, que recibe desde los acantilados. Este glaciar posee un marcado retroceso (Ruiz *et al.*, 2016), y durante el desarrollo de esta Tesis el frente ha retrocedido alrededor de 90 metros (2012-2016).

Los estudios de ambos arroyos fueron llevados a cabo en un valle fluvial a 920 m (Figura II.3, puntos C y D, ver también Figura II.4 C y D). Esta zona presenta una situación única, ambos arroyos corren en paralelo (distanciados entre sí por 250 m), poseen la misma orientación (NO-SE), la misma pendiente, no poseen influencia del bosque que modifique la llegada de luz y por lo tanto las exposiciones solares son similares. Este valle se encuentra sin vegetación (ver límite del bosque en Figura II.3), debido a que el bosque fue arrasado durante la falla de la morena frontal del Ventisquero Negro en mayo del 2009 (para más información consultar Worni *et al.* (2012)).

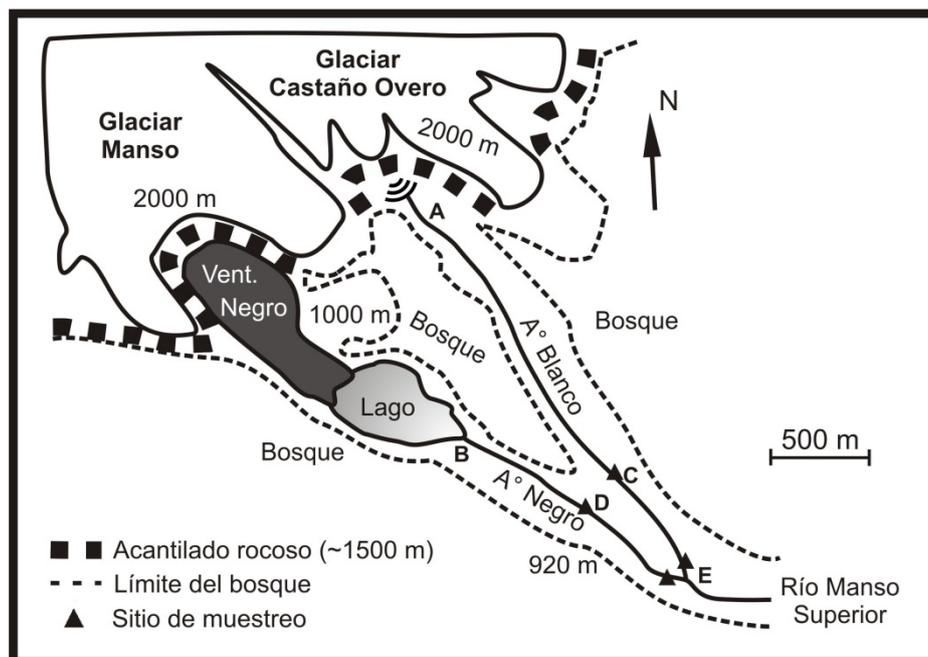
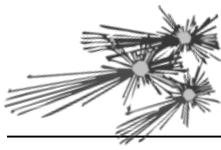
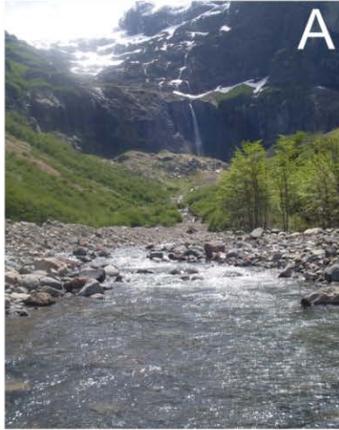


Figura II.3: Localización de la cabecera de los arroyos (A y B) y los sitios de muestreo (C, D y E).



A° BLANCO



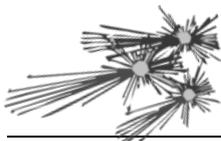
A° NEGRO



UNIÓN ARROYOS



Figura II.4: Cabecera del arroyo Blanco (A) y del arroyo Negro (B), zona de muestreo de ambos arroyos (C y D) y zona de confluencia de ambos arroyos (E).



Procedimientos de Muestreo y Laboratorio

Se tomaron muestras de agua de los arroyos Negro y Blanco (Figura II.3 y II.4) durante el otoño, primavera y verano del 2012 al 2015 (fechas: 9/05/12, 4/12/12, 21/01/13, 19/02/2013, 14/03/13, 21/11/13, 17/12/14, 6/01/14, 20/01/14, 20/02/14, 2/04/14 y 14/05/15). En el arroyo Blanco se tomaron 12 muestras a lo largo de dicho período y 7 muestras en el arroyo Negro, para analizar los niveles de turbidez. En cada uno de los arroyos se tomaron muestras 500 m arriba de donde luego confluyen (Figura II.4 C y D) y dan origen al río Manso Superior (Figura II.5 E).

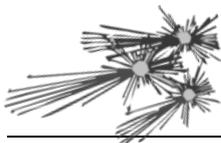
En todas las ocasiones de muestreo se midió la turbidez (unidades nefelométricas de turbidez: NTU) del agua utilizando un medidor portátil de turbidez (Lutron TU-2016, Taipei, Taiwán). Además en cada muestreo se tomaron muestras de agua de cada arroyo, en recipientes de plásticos lavados previamente. La concentración de sólidos totales en suspensión (STS) fue estimada a través del filtrado de 250 mL de agua de cada uno de los arroyos por medio de un filtro tarado GF/F, que fue secado durante 48 h a 60°C y vuelto a pesar.

Mediciones en el arroyo Blanco

Se realizaron mediciones con registradores automáticos de profundidad y temperatura (U20 HOBO Onset, Bourne, MA, EEUU) solo en el arroyo Blanco. Durante dos períodos se tomaron datos de temperatura y profundidad. El primer período fue un lugar cercano a la cabecera del arroyo Blanco (Figura II.4 A) durante dos semanas entre enero y febrero del 2013. El segundo período fue durante 107 días, desde diciembre del 2013 a abril del 2014, en la zona de muestreo (Figura II.4 C).

Datos Meteorológicos

Se utilizaron los datos meteorológicos (temperatura y precipitación) de la estación meteorológica localizada a 20 kilómetros al NO de la zona de muestreo (Puerto Blest, 41°01'38.62" S, 71°48'45.96" O, 820 msnm). Asimismo se utilizaron datos meteorológicos históricos disponibles en el Servicio Meteorológico Nacional (<http://www.smn.gov.ar/>) y de la Subsecretaría de Recursos Hídricos de la Nación, de la Base de Datos Hidrológica Integrada (BDHI, <http://bdhi.hidricosargentina.gov.ar/>).



Análisis de Datos

Se analizó la variación en el ingreso de arcillas glaciares (sólidos en suspensión) sólo en el arroyo Blanco, debido a que presentó una variación mucho mayor que el arroyo Negro.

Utilizando los datos obtenidos en campo: profundidad, temperatura del agua, turbidez y peso de sólidos en suspensión; se procedió a analizar la correspondencia con las variables meteorológicas (precipitación y temperatura del aire). Se utilizó la temperatura del aire promedio de los 3 días anteriores al muestreo y no la temperatura del día de muestreo debido a que esta última está condicionada al momento del muestreo y puede no representar lo que sucedió días anteriores al muestreo. De forma similar se procedió con el caso de las lluvias (suma de la precipitación de los 3 días anteriores al muestreo). Para lo cual se realizaron regresiones lineales múltiples, con las variables estandarizadas. Luego se analizaron los residuales en busca de autocorrelación temporal, mediante el test de Durbin-Watson y por medio de la función de autocorrelación (ACF): correlación de los residuales con sus propios desfases (lag). Posteriormente se incluyó la autocorrelación temporal (AR1) en el modelo, utilizando la función *gls* (mínimos cuadrados generalizados) del paquete estadístico *nlme* (modelos de efectos mixtos lineales y no lineales). Todos los datos fueron analizados utilizando R (Team R, 2015) y/o Sigma Plot.12 (Systat Software Inc, San Jose, CA, EE.UU.).

Para calcular la temperatura a la altura de un glaciar (z), se determinó por la siguiente expresión:

$$T_z = T_0 + L(z_0 - z)$$

donde T_0 es el promedio de la temperatura diaria en la estación meteorológica de Blest ($^{\circ}\text{C}$); L es el gradiente de temperatura y altitud ($0.0065\text{ }^{\circ}\text{C m}^{-1}$, Ruiz *et al.* (2015)); $z_0 = 820\text{ m}$, es la altitud de la estación meteorológica de Blest y z es la altura del glaciar Castaño Overo (2000 m) y Ventisquero Negro (1000 m).

Resultados y Discusión

El arroyo Blanco

Este arroyo tiene un régimen dominado por la tasa de deshielo, y consecuentemente muestra una gran sintonía con la temperatura del aire (Figura II.5).

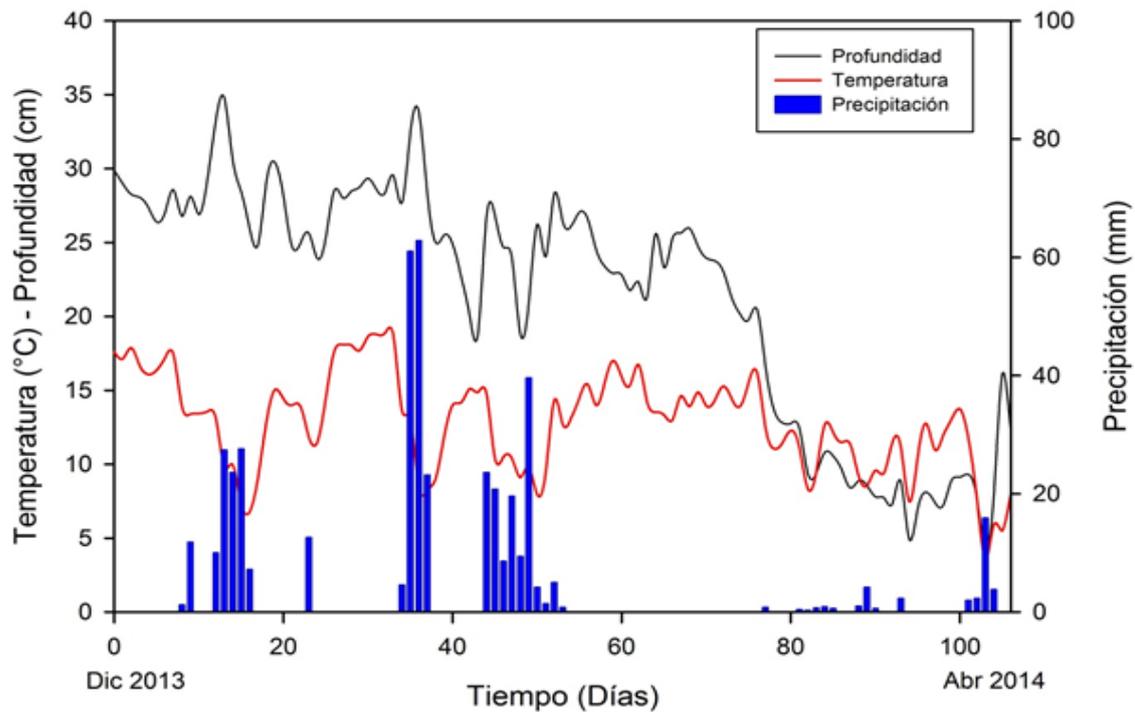
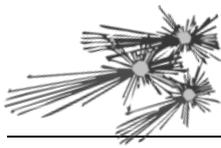


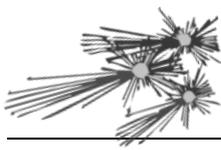
Figura II.5: Variación de la profundidad del arroyo Blanco desde el 17/12/2013 al 02/04/2014 en intervalos de 4 horas (estimación HOBO *in situ*). Se presentan datos de promedios diarios de temperatura del aire y precipitación acumulada diaria (estación pto. Blest).

Tabla II.1 : Tabla ANOVA de la regresión lineal múltiple basado en los mínimos cuadrados generalizados (GLS), teniendo en cuenta la autocorrelación temporal. Las variables se encuentran estandarizadas.

	Valor	Error Est.	Valor-t	p-valor
Intersección	-0.040	0.75	-0.11	0.92
s.Precipitación	0.35	0.03	4.10	0.0001
s.Temperatura	0.66	0.04	5.66	<0.0001
s.Prec:s.Temp	-0.17	0.02	-0.82	0.41

AICc modelo sin autocorrelación = 239.2
 AICc del modelo con autocorrelación = 8.73
 Phi de autocorrelación = 0.98

Sin embargo las fluctuaciones ocasionales en el caudal, (incrementos en la profundidad, Figura II.5), son causadas por las precipitaciones. Para caracterizar esta influencia dual, con datos de campo se realizó un análisis de regresión múltiple en donde se ve que la influencia de la temperatura del aire y la precipitación sobre la profundidad del arroyo Blanco. Sin embargo esta regresión posee una marcada autocorrelación temporal (Durbin-Watson test $p < 0.001$, $DW = 0.49$), por lo que se la



incluyó la autocorrelación temporal en el modelo final ($s.Prof = s.Prec * 0.35 + s.Temp * 0.66 + [AR(1) = 0.96]$, Tabla II.1). Estos resultados indican que la profundidad refleja un hidrograma que describe un nivel base (del flujo de agua) sostenido por el derretimiento de hielo influenciado por la temperatura del aire y aumentos de caudal

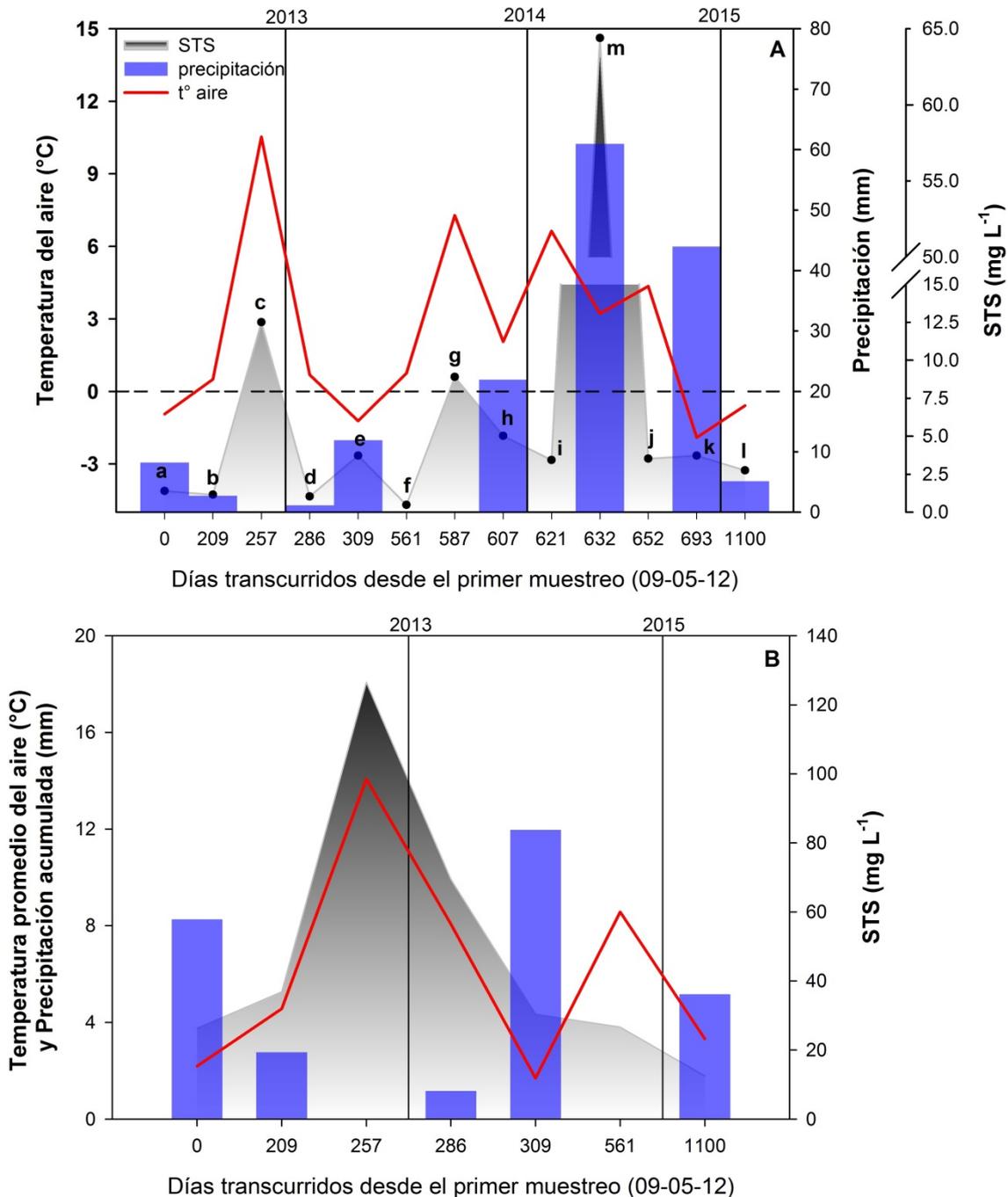
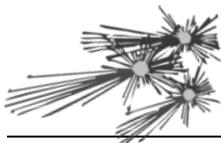


Figura II.6: Variación de la carga de sólidos en suspensión (STS), de la temperatura promedio (T_z , 3 días anteriores al muestreo) y precipitación acumulada (3 días anteriores al muestreo). **A.** del arroyo Blanco desde mayo 2012 a mayo 2015 ($n = 12$, a-l, m es un dato accesorio), y **B.** del arroyo Negro ($n = 7$). Los datos de Temperatura y precipitación fueron obtenidos de la estación meteorológica de pto. Blest. La temperatura del aire (T_z) fue modificada según la altitud del glaciar (ver Métodos). La línea punteada representa el punto de fusión (0°C).



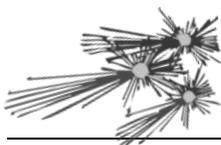
ocasionales asociados a la escorrentía producida por las precipitaciones en forma de lluvia (torrenciales).

Al igual que la profundidad, en la Figura II.6A se observa que la turbidez del arroyo Blanco, a causa de los sólidos en suspensión (media \pm desviación estándar, STS = $3,65 \pm 2,99 \text{ mg L}^{-1}$), se ve influenciada por las precipitaciones ($b' = 0,94$; $p < 0,001$), por la temperatura ($b' = 0,74$; $p < 0,001$) y la combinación de ellos ($b' = 0.65$; $p = 0.001$), a lo largo de todo el año ($r^2 = 0,90$; $p < 0,0001$, Tabla II.2). La utilización de la precipitación acumulada y la temperatura promedio de los 3 días anteriores del muestreo permite tener en cuenta la demora temporal del deshielo y el efecto de la lluvia en las altas cumbres. En primera instancia se destacan los picos de turbidez (picos c, g, i y j, Figura II.6) que son netamente producto del deshielo (por las altas temperaturas en el glaciar). Por otro lado, las lluvias estivales torrenciales en las cumbres producen un lavado de sedimentos producto del derretimiento del glaciar, que además incrementa el arrastre de materiales desde las orillas del arroyo, generando un una menor carga de arcillas que cuando se debe exclusivamente a deshielo (pico a, e, k y l). También existen casos de aumentos de arcillas en suspensión por deshielo y arrastre de material desde las orillas por lluvias (picos b, d y m). Sin embargo cuando la temperatura es relativamente baja, la tasa de deshielo es baja y no hay lluvias (pico f), la carga de arcillas desciende significativamente.

Tabla II.2 : Tabla ANOVA de la regresión lineal múltiple para analizar la influencia de la precipitación y temperatura sobre la carga de sólidos en suspensión (STS) en el arroyo Blanco.

	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Valor F	p -valor
s.Precipitación	1	8.29	82.86	0.04
s.Temperatura	1	0.56	5.64	<0.001
s.Prec:s.Temp	1	2.25	22.45	0.001
Residuales	9	0.90		

Ecuación Regresión Lineal:
 $s.STS = s.Prec * 0.94 + s.Temp * 0.74 + (s.Prec*s.Temp)*0.65$



El arroyo Negro

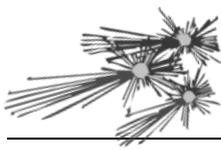
Las aguas del arroyo Negro acarrean gran cantidad de arcillas glaciares en suspensión que provienen del efecto erosivo del glaciar Ventisquero Negro o son producto del lavado de la cubierta de escombros del propio glaciar. En consecuencia el arroyo Negro tiene una alta carga de sólidos ($STS = 46,03 \pm 19,35 \text{ mg L}^{-1}$) de manera regular debido al drenaje continuo de las turbias aguas del lago. La carga de arcillas en suspensión en el arroyo Negro (Figura II.6B) solo se vio influenciada por el incremento de la temperatura, mientras que las precipitaciones no afectaron significativamente la turbidez (Tabla II.3).

El caudal del arroyo Negro responde a la relación lago-glaciar que a su vez está supeditada a la relación entre el *calving* y el flujo del glaciar. El fenómeno conocido como *calving* es el proceso en donde trozos terminales de un glaciar se desprenden y caen. El desprendimiento se produce como consecuencia de la inestabilidad producida por el movimiento de avance del glaciar sobre el lago (Ruiz *et al.*, 2015). Contemporáneamente (a partir de la década del '80) la velocidad de *calving* comenzó a superar la velocidad del flujo del glaciar, debido a la acumulación de agua en la cubeta. El incremento contemporáneo de la profundidad del lago, a partir del evento catastrófico del 2009 (Worni *et al.*, 2012), hizo que aumentara la tasa de *calving*, observándose así cambios notables en el frente del Ventisquero Negro (cambio de -10 m de elevación en 390 días, (Ruiz *et al.*, 2015)). De esta forma el contenido de arcillas en suspensión estará regulado y amortiguado por el lago, respondiendo principalmente a las variaciones estacionales (acumulación-fusión), salvo ciertas ocasiones donde aumente significativamente la altura del lago (por lluvias torrenciales o grandes desprendimientos de hielo del frente del Ventisquero Negro).

Tabla II.3 : Tabla ANOVA de la regresión lineal múltiple para analizar la influencia de la precipitación y temperatura sobre la carga de sólidos en suspensión (STS) en el arroyo Negro.

	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Valor F	p -valor
s.Precipitación	1	0.73	3.37	0.2
s.Temperatura	1	4.38	43.81	0.007
s.Prec:s.Temp	1	0.58	5.79	0.1
Residuales	3	0.30		

$$\text{Ecuación Regresión Lineal: } s.STS = s.Temp * 0.85$$



Finalmente se puede establecer una relación entre los cambios que acontecen en los arroyos y las velocidades de flujo superficial de los glaciares. Según un reciente trabajo de análisis de velocidad superficial de los glaciares del monte Tronador (Ruiz *et al.*, 2015) existen patrones estacionales asociados a cambios en las velocidades de flujo. Pendientes suaves como las del Castaño Overo y Alerce se caracterizan por tener una baja y casi invariable velocidad de flujo (Figura II.7), y de esta forma poseen menores fluctuaciones de velocidad a lo largo del año (Ruiz *et al.*, 2015). Por otro lado, los glaciares localizados en pendientes pronunciadas e interrumpidas con acantilados, como en el caso del glaciar Manso-Ventisquero Negro, poseen velocidades de flujo mayores y a su vez presentan mayores tasas de fluctuaciones (diferentes aceleraciones según el período del año). Este comportamiento diferencial se debe a variaciones estacionales en la cantidad de agua que existe en la base de los distintos glaciares, y que actúa como

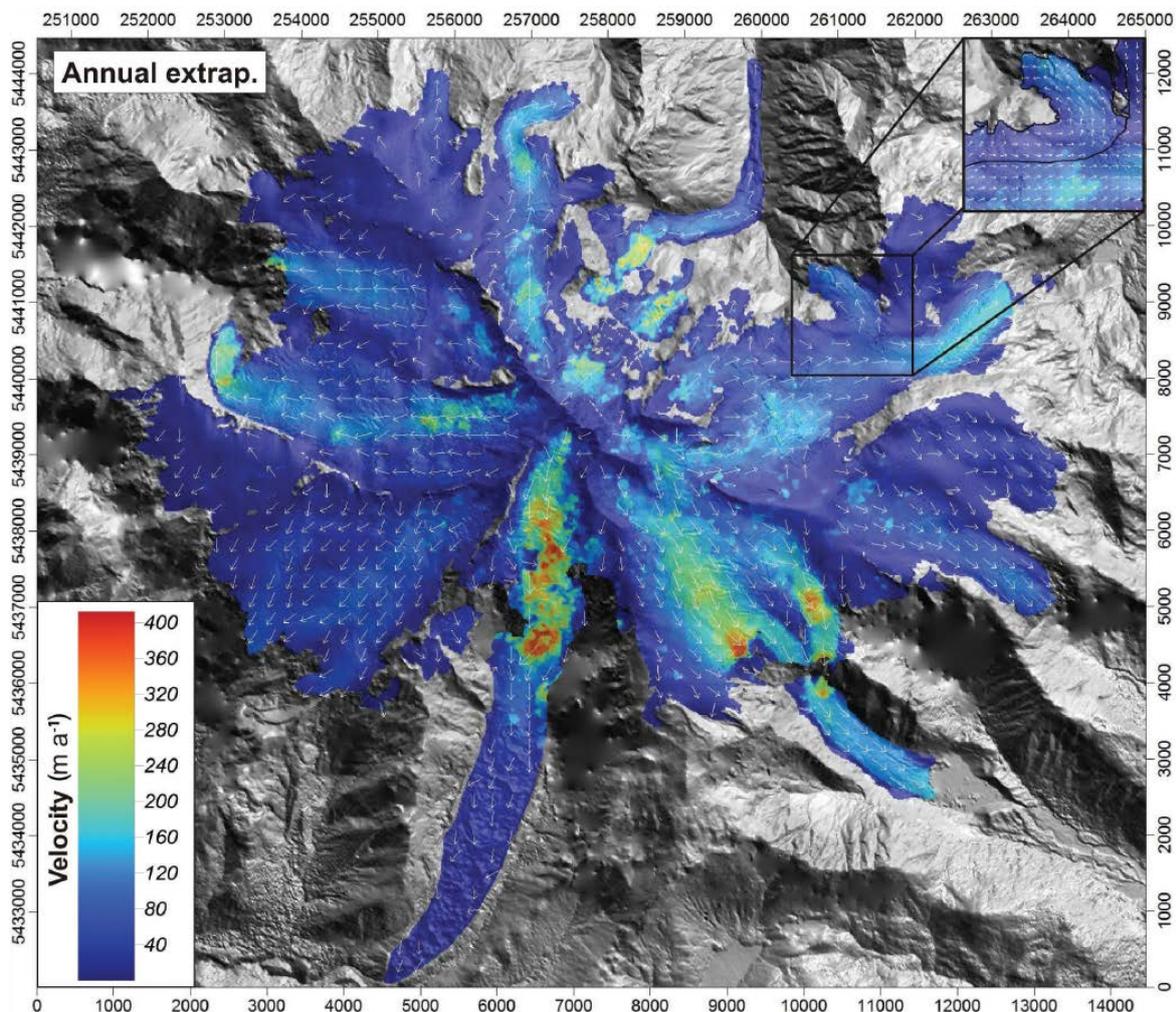
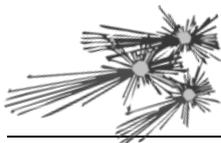


Figura II.7: Extrapolación anual en base a las velocidades superficiales de los glaciares calculadas mediante fotografías satelitales. (Ruiz *et al.*, 2015).

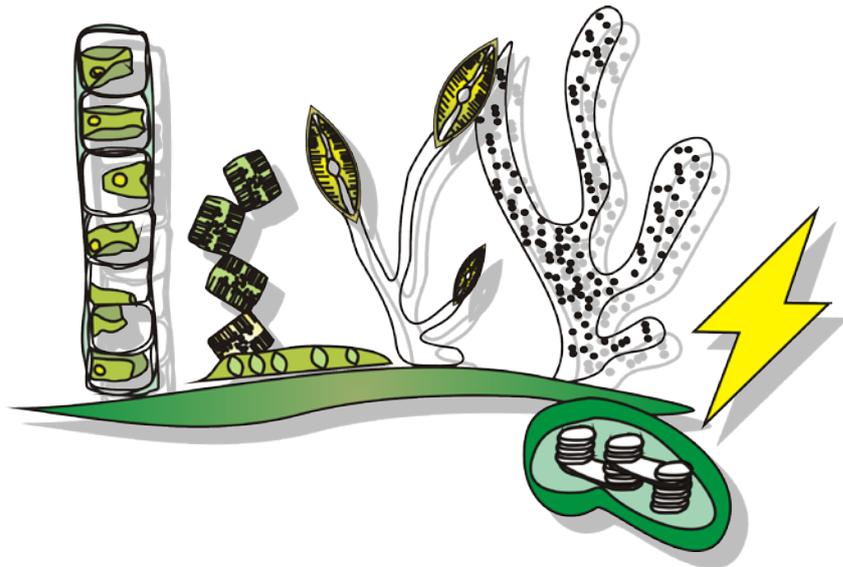


“lubricante” para el deslizamiento del hielo (Fountain y Walder, 1998).

En períodos de tiempo cortos, eventos extremos, tales como fuertes lluvias pueden causar una modificación en la velocidad superficial y ésta puede aumentar durante unas horas (Naruse *et al.*, 1992; Sugiyama y Gudmundsson, 2003). El aumento de agua podría explicar el aumento en la velocidad de superficie en las lenguas glaciares más bajas. Por lo tanto, los cambios debido a lluvias serán más evidentes en arroyos como el Blanco que reciben agua de deshielo proveniente de glaciares con baja movilidad (Castaño Overo). Estos glaciares durante gran parte del año entregan agua de deshielo con baja concentración de arcillas (baja turbidez) producto del menor efecto erosivo reflejado por un menor flujo del glaciar por tener menores pendientes. Sin embargo, las lluvias pueden producir una modificación significativa en la turbidez del agua como los cambios en la turbidez (de 0 a 18 NTU en 7 días) observados durante febrero 2013, o en aumentos súbitos del nivel de agua (23 cm en 8 hs, febrero 2013). En cambio los arroyos que reciben el deshielo de glaciares que poseen una velocidad superficial alta durante todo el año no muestran una variación tan marcada. Asimismo es importante destacar que el arroyo Negro posee un lago que funciona de amortiguador ante estos eventos de grandes lluvias.

CAPÍTULO III

EL AUMENTO DEL DERRETIMIENTO DE LOS GLACIARES COMO CONSECUENCIA DEL CAMBIO CLIMÁTICO: ¿UNA PROTECCIÓN TRANSITORIA PARA LAS ALGAS DEL PERIFITON FRENTE A LA ALTA RADIACIÓN?



Introducción

El incremento de la pérdida de volumen en los glaciares debido a la ablación sumado a los balances negativos de masa, han afectado el ciclo del agua a nivel mundial (Dyurgerov, 2003), siendo el incremento de la temperatura del aire el principal forzante en el cambio morfológico de los glaciares (Wolfe y Lind, 2008). Debido a que los glaciares de todo el mundo se están derritiendo rápidamente (Masiokas *et al.*, 2008), el flujo de agua de deshielo hacia los arroyos se ha incrementado, y con ello las preguntas acerca de las respuestas de los ecosistemas aguas abajo. El agua de deshielo que reciben los ríos contienen grandes cargas de partículas de sólidos en suspensión (principalmente arcilla inorgánica) que puede afectar las condiciones físicas, químicas y biológicas (Lind *et al.*, 1997; Uehlinger *et al.*, 2010). Este aumento en el contenido de arcillas glaciares provoca un aumento de los sólidos totales en suspensión que reduce la disponibilidad de luz (Modenutti *et al.*, 2000), que a su vez afecta la distribución de los productores primarios y los herbívoros (Hylander *et al.*, 2011; Laspoumaderes *et al.*, 2013; Modenutti *et al.*, 2013). Además, las cantidades de partículas varían estacionalmente, dentro y entre sistemas (Eisma, 1993; Wood y Armitage, 1997),



influyendo las funciones fotosintéticas de los productores primarios en la fijación de energía (Kirk, 1994). En los ríos, gran parte de la productividad está asociada con el perifiton (es decir, la comunidad bentónica adherida al lecho del río, que se compone principalmente de algas y bacterias) (Dodds *et al.*, 1996). Por lo tanto, se puede esperar que los fotóautótrofos del perifiton se vean afectados por la disminución en la disponibilidad de luz.

La fotosíntesis implica numerosas respuestas bioquímicas y de desarrollo a las condiciones lumínicas, que ayudan a optimizar la utilización de la luz y el crecimiento de los autótrofos (Falkowski y Raven, 2007). Esto incluye ajustes en las secciones de absorción de los sistemas de antenas (proteínas y conjuntos de proteínas) y cambios en el número de centros reactivos (Long *et al.*, 1994).

La atenuación de luz por las arcillas posee una gran importancia ecológica debido a que reduce la penetración lumínica en la columna de agua que directamente afecta los procesos fotosintéticos de los productores primarios (Kirk, 1994). Con lo cual se espera que los cambios en las condiciones lumínicas se vean reflejados en la fijación de C y en la relación C:P. Los productores primarios se caracterizan por poseer un contenido variable de nutrientes que es el resultado de un balance flexible en la relación C: nutrientes, en función del estatus nutricional específico (N y P) y de la disponibilidad de luz (Hipótesis Luz: Nutrientes (Sterner *et al.*, 1997)). Asimismo, su composición elemental puede reflejar sus asignaciones bioquímicas secundarias y sus estrategias ecológicas (Cross *et al.*, 2005; Elser *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2012).

El fotosistema II (FSII) es un complejo de proteínas que participa en las reacciones dependientes de la luz de la fotosíntesis oxigénica y, por lo tanto, muy susceptible a la luz intensa. El efecto producido por la exposición a la luz intensa se denomina fotodaño o fotoinhibición, dependiendo del tiempo de exposición (Allakhverdiev *et al.*, 2005). En particular, el grado de fotodaño representa un equilibrio entre las tasas de daño solar y de reparación del FSII. Esta reparación está relacionada con dos procesos fotosintéticos importantes: la tasa de transferencia de electrones (ETR) y la síntesis de adenosin trifosfato (ATP) (Murata *et al.*, 2007a; Takahashi y Badger, 2011). Se ha propuesto que la mayoría de los estresores ambientales inactivan el FSII, a través de la inhibición de los mecanismos de reparación del fotodaño, en lugar de afectar el fotosistema en sí mismo (Murata *et al.*, 2007a). Un exceso de luz provocaría una disminución en el número total de centros reactivos funcionales, contribuyendo así a una disminución en la eficiencia fotoquímica máxima de FSII, por lo que si esto se



prolonga en el tiempo, la actividad del FSII se inhibiría (Maxwell y Johnson, 2000). Por lo tanto, uno de los balances más importantes para los productores primarios es el equilibrio entre la fijación de C y la fotoinhibición, que puede ser dinámica o crónica (fotodaño). En este sentido, la migración a niveles más profundos es una estrategia adecuada para los fotótrofos fitoplanctónicos móviles (Callieri *et al.*, 2007; Ross y Sharples, 2008); sin embargo, los productores primarios del perifiton adheridos al fondo del arroyo no pueden migrar más profundamente en la columna de agua. Además, la complejidad de la propia matriz perifítica implica una exposición diferencial, según el estrato que ocupe el productor primario (Steinman, 1992). En consecuencia, estas comunidades deben ser dominadas por formas perifíticas que equilibren adecuadamente la utilización de la luz y su composición estequiométrica final será el resultado de esta disponibilidad de luz y los nutrientes disponibles (Hill y Fanta, 2008). Por último la estequiometría también dependerá de la diversidad y composición de especies del perifiton (Dickman *et al.*, 2006).

Los Andes Patagónicos encierran extensas áreas con glaciares que recientemente han mostrado recesión continua (Masiokas *et al.*, 2010a). En particular, los glaciares del Monte Tronador han retrocedido en los últimos años y en la región se han observado arroyos con mayor y menor turbidez (ver capítulo II). Aprovechando esta situación natural de arroyos con distintos niveles de turbidez libres de dosel arbóreo, en este capítulo analizamos si el derretimiento glaciar va a afectar la relación luz-nutrientes para los productores perifíticos. Asimismo determinamos si estos cambios afectan a los parámetros fotosintéticos del perifiton modificando la fijación de C y, en consecuencia, afectando la estequiometría de estos productores.



Objetivo General

El objetivo de este capítulo fue analizar la respuesta en las funciones fotosintéticas y las relaciones elementales C:N:P de los productores primarios del perifiton frente a distintas condiciones de luz, dadas por el ingreso de arcillas.

Objetivos Específicos

- Analizar y comparar la actividad fotosintética de los productores primarios del perifiton del arroyo Blanco y el arroyo Negro, en distintas condiciones lumínicas.
- Relacionar la actividad fotosintética con la disponibilidad lumínica en ambos arroyos y durante diferentes períodos del año.
- Relacionar la composición elemental de los productores primarios del perifiton con la actividad fotosintética y con la disponibilidad lumínica.
- Analizar y comparar la comunidad algal del perifiton bajo diferentes condiciones de disponibilidad lumínica.

Hipótesis

Los ingresos de arcillas glaciares determinarán las relaciones luz:nutrientes en los arroyos glaciares y, en consecuencia, afectarán a los parámetros fotosintéticos y a la estequiometría de los productores perifíticos.

Predicciones

El ingreso de arcillas glaciares provocará una disminución de la relación luz: nutrientes por lo que se reducirá la relación C:P por una disminución de la radiación solar que reciben los productores primarios.

Los arroyos libres de dosel con bajo contenido de arcillas en suspensión tendrán un exceso de luz que provocará fotoinhibición y, por lo tanto, disminuirá la eficiencia fotosintética del FSII.



Métodos

Procedimientos de Muestreo

Se tomaron muestras de agua y de perifiton, de los arroyos Negro y Blanco, durante el otoño, primavera y verano del 2012-2013, en un total de seis ocasiones. Cada uno de los ríos fue muestreado sub-superficialmente 500 m arriba de la zona de confluencia de los arroyos Negro y Blanco (Figura II.1). En dos ocasiones, ambos arroyos fueron muestreados 2 m antes de su confluencia (Unión).

Se midió la turbidez (unidades nefelométricas de turbidez: NTU) del agua utilizando un medidor portátil de turbidez (Lutron TU-2016, Taipei, Taiwán); la temperatura, la conductividad y el oxígeno disuelto fueron medidos con un oxímetro-conductímetro (YSI 85, Ohio, Estados Unidos). Además, en cada muestreo se tomaron muestras de 2 L de agua de cada arroyo, en recipientes de plásticos lavados previamente con ácido, que fueron transportados al laboratorio en contenedores con aislamiento térmico. Para el estudio de la comunidad perifítica, siguiendo Hauer y Lamberti (2007), tres piedras fueron seleccionadas al azar en cada punto de muestreo de una sección de 6 m del canal principal. Antes de ser colectadas las piedras del arroyo, se midieron *in situ* la irradiancia sobre cada piedra (radiómetro portátil Armour SL-125, Biospherical Instruments Inc., San Diego, CA, EE.UU.) y los parámetros fotoquímicos relacionados con la actividad fotosintética del perifiton, de aquí en adelante denominados *fotosintéticos* (qP, Y, NPQ, Y/qP y ETRr, ver más abajo la sección *parámetros fotosintéticos de fluorescencia*). Esta medición se realizó dentro del arroyo sobre la superficie superior de la piedra con un WATER-PAM equipado con una unidad de fibra óptica Water-EDF y el software WinControl (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemania). Los valores obtenidos fueron registrados en un archivo y guardados en una computadora portátil para luego ser analizados. Después de realizadas las mediciones en cada piedra, cada una de ellas fue almacenada en una bolsa de plástico hermética con agua del arroyo y de inmediato fueron trasladadas al laboratorio en condiciones de oscuridad en recipientes con aislamiento térmico.

Parámetros de fluorescencia fotosintética

Los parámetros fotosintéticos se midieron *in situ* con un fluorómetro PAM, que proporciona información acerca de las condiciones de funcionamiento del FSII (Figura III.1). Este fluorómetro normalmente consta de cuatro fuentes de luz que proporcionan cuantitativamente diferente radiación, que induce cambios en el estado *redox* de los



componentes de la cadena transportadora de electrones que van desde el FSII al FSI y causan la fluorescencia de la clorofila. Si bien los dos fotosistemas generan una respuesta en forma de fluorescencia, la mayor corresponde al FSII (Krause-Jensen y Sand-Jensen, 1998), por lo cual siempre se habla del efecto en el FSII cuando se utiliza esta técnica.

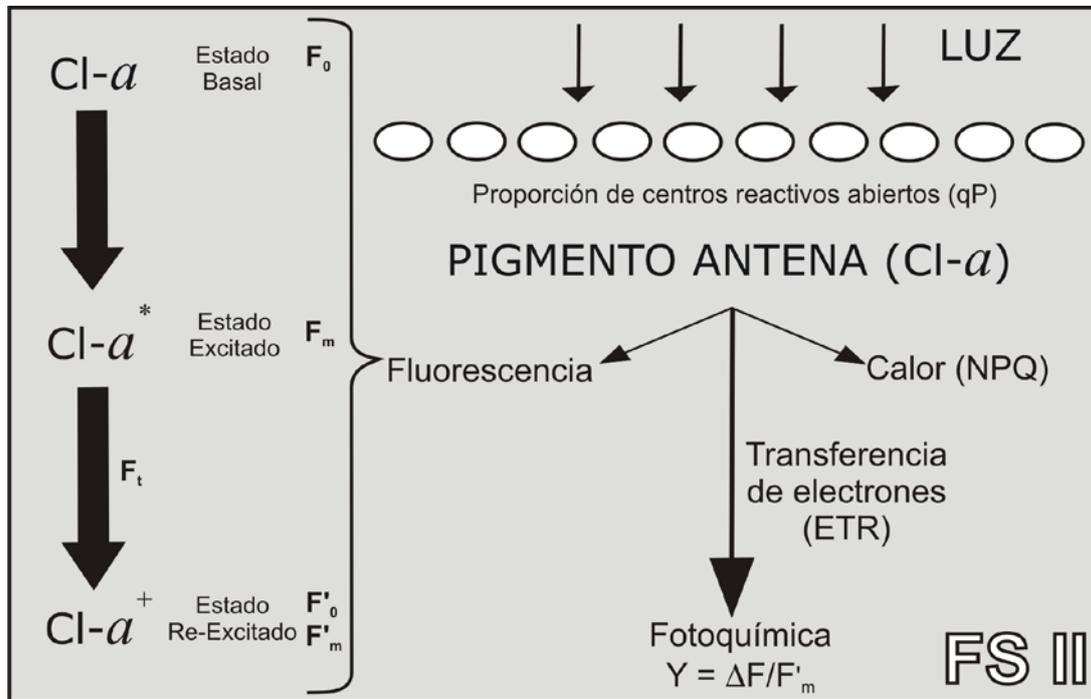


Figura III.1: Esquema de tres niveles de la redistribución de la energía de excitación de la luz (calor, fotoquímica y la fluorescencia) absorbida por el centro de reacción de la antena de la cosecha luz del FSII. El diagrama de energía muestra el estado fundamental (Cl-a), el estado excitado (Cl-a *) y el estado re-excitado (Cl-a +), y sus parámetros de fluorescencia. Ver el texto para mayor información.

Para medir el estado basal de la clorofila (F_0), que es el nivel de fluorescencia del pigmento antena (clorofila a , Cl- a) cuando todos los centros reactivos del FSII están abiertos se requiere de adaptación a la oscuridad. Si se aplica entonces un pulso de luz actínica, se mide la máxima fluorescencia (F_m). El valor del estado estacionario de fluorescencia inmediatamente antes del segundo pulso de luz actínica se denomina F_t . Después de un período de tiempo, otro pulso de luz actínica permite obtener la medición de la mínima fluorescencia inicial (F'_0) y la fluorescencia máxima (F'_m) en condiciones de luz (Maxwell y Johnson, 2000). Estos últimos valores de fluorescencia (F'_0 , F'_m y F_t), fueron los utilizados en este estudio para determinar los parámetros fotoquímicos de la fotosíntesis (denominados en este estudio como parámetros fotosintéticos): el rendimiento cuántico efectivo

$$Y = \frac{F'_m - F_t}{F'_m} = \frac{\Delta F}{F'_m}$$



del FSII, la tasa relativa de transferencia de electrones ($ETR_r = \mu\text{mol electrones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$,

$$ETR_r = \frac{F'_m - F_0}{F'_m} \times RFA,$$

el decaimiento fotoquímico

$$qP = \frac{F'_m - F_t}{F'_m - F'_0}$$

y el decaimiento no fotoquímico

$$NPQ = \frac{F_m - F'_m}{F'_m}$$

(Roháček *et al.*, 2008). Estos 3 grupos de parámetros fotosintéticos fueron obtenidos utilizando el software WinControl-3.23 (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemania).

Cada piedra fue muestreada mientras se encontraba sumergida en los arroyos y sobre su superficie se le realizaron las siguientes mediciones: (a) con la luz actínica apagada se estimó el estado actual de los fotosistemas (F'_0 y F'_m), (b) luego se midió la respuesta fotosintética a un pulso de RFA de $1004 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (3 mediciones), y (c) por último se realizó una curva rápida de luz (CL), en 9 pasos incrementales de intensidades (0, 91, 136, 206, 304, 472, 703, 1004 y $1403 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en intervalos de 10 segundos. Este conjunto de mediciones permitió analizar el estado fotosintético del perifiton bajo condiciones normales de luz (sin previa aclimatación a la oscuridad), es decir según la historia lumínica que poseía: esto es alta disponibilidad de luz en el arroyo Blanco y baja disponibilidad en el arroyo Negro. Asimismo, con el pulso de luz actínica de $1004 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ se buscó comparar la respuesta fotoquímica según la aclimatación de su aparato fotosintético. Este pulso representó cambios en las intensidades lumínicas: en el arroyo Blanco un 25% menos de la intensidad de luz y en el arroyo Negro un 80% más de la intensidad de luz, ambos referidos a la media de luz del mediodía de días despejados.

Bajo la exposición a alta irradiancia, es esperable que qP (proporción de centros de reacción abiertos del FSII) sea menor que en condiciones de menor disponibilidad de luz. Además la exposición a condiciones de alta luminosidad se ve reflejada en una disminución del rendimiento cuántico efectivo Y , y de la tasa relativa de transferencia electrónica (ETR_r) (Murata *et al.*, 2007a). Por lo tanto, la relación Y/qP , es decir la eficiencia fotosintética por centro reactivo abierto, será baja debido a que una alta proporción de la energía no será utilizada por el FSII. Sin embargo, la respuesta del



NPQ (disipación térmica del FSII) depende de la “historia de luz” del organismo (Müller *et al.*, 2001) debido a que la exposición a la alta irradiancia puede generar especies reactivas de oxígeno (ERO) que inhiben la reparación del FSII a causa de la supresión de síntesis de proteínas (Murata *et al.*, 2007a).

Procedimientos de Laboratorio

En el laboratorio, el perifiton se obtuvo al raspar las piedras individualmente con un cepillo y luego de enjuagar cuidadosamente con agua destilada. El volumen final fue llevado a un volumen constante de 100 mL y se expresó en relación a las 2/3 partes de la superficie total de la piedra (cm^2) (Biggs y Close, 1989), que fue estimada a partir de las longitudes de los tres principales ejes (Graham *et al.*, 1987). El volumen obtenido se designó para la estimación de la concentración de clorofila *a* (Cl-*a*), las concentraciones de C y P, y la composición de algas. Para la determinación de Cl-*a*, se filtró una alícuota de 1 mL de la suspensión de perifiton obtenida anteriormente con filtros de fibra de vidrio (GF/F, Whatman™, Maidstone, Inglaterra). La clorofila fue extraída con etanol caliente después de la filtración (Nusch, 1980) y se midió con un fluorómetro 10-AU (Turner Designs, Sunnyvale, CA, EE.UU.), que había sido previamente calibrado contra medidas espectrofotométricas. Otros 5 mL de la suspensión fueron filtrados por filtros muflados GF/F, posteriormente fueron secados a 60°C por 48 hs y luego fueron procesados con un analizador elemental Thermo Finnigan EA 1112 CN (Thermo Scientific, Milano, Italia) para medir el contenido de C orgánico particulado. La concentración de P del perifiton se determinó al filtrar 5 mL de la suspensión sobre filtro GF/F prelavados en ácido (HCL al 10%) y muflados, y puestos en estufa durante 48 hs a 60°C. Posteriormente los filtros con el material retenido fueron nuevamente muflados a 550°C durante 1 h, luego las cenizas fueron colocadas en frascos para medir la concentración de P a través de una reacción ácida con molibdato de amonio (Eaton *et al.*, 2005). Cada parámetro fue estimado para 3 réplicas (3 piedras) y la concentración de Cl-*a*, C y P fue expresada como mg m^{-2} . Finalmente, 20 mL de la suspensión de perifiton fueron fijados con lugol ácido para el análisis de la composición algal.

Con respecto al agua obtenida de los arroyos, se filtraron 250 mL de cada arroyo de cada fecha, a través de filtros muflados de GF/F y luego se analizó el contenido de C y N particulado. A partir del agua filtrada se determinaron el contenido de fósforo total disuelto (PTD) y de carbono orgánico disuelto (COD). COD fue medida con un analizador de carbono (Shimadzu TOC VCSH, Kyoto, Japón). Las muestras para la



medición de PTD fueron digeridas con persulfato de potasio a 125°C a 1.5 atm por 1 hora, seguido de una reacción ácida con molibdato de amonio (Eaton *et al.*, 2005). La concentración de nitrógeno total (NT) fue estimada siguiendo Valderrama (1981). La concentración de sólidos totales en suspensión (STS) fue estimada a través del filtrado de 250 mL de agua del arroyo por medio de un filtro tarado GF/F, que fue secado durante 48 h a 60°C y vuelto a pesar.

Mediciones de las condiciones lumínicas

La absorción de la luz a causa de las arcillas en suspensión fue medida a través de dos métodos. En primer lugar, se midió la absorción de luz directamente con un radiómetro PUV500B sumergible (Biospherical Instruments, San Diego, CA, EE.UU.) en los puntos de muestreo donde la profundidad lo permitía en los arroyos Negro y Blanco (más de 50 cm). Asimismo se midió con el PUV durante 4 horas (cada 10 segundos) alrededor del cenit, la luz ambiental junto a los arroyos. Además con agua sin filtrar de ambos arroyos se realizaron escaneos con un espectrómetro de doble haz (Shimadzu UV 2450, Kyoto, Japón) desde 250 nm a 700 nm cada 1 nm; agua MilliQTM fue usada como blanco. Como el escaneo dura 10 segundos la sedimentación de la arcilla fue despreciable. La absorbancia, A, fue transformada en a, expresada como m⁻¹, usando

$$a = \ln(10^A) / L$$

donde L es el largo de la cubeta (Morris *et al.*, 1995).

El coeficiente de atenuación de la luz (K_d) fue estimado a partir de las mediciones de luz directa y escaneos espectrofotométricos. La luz incidente en cada muestra (I_z), ajustado por el nivel de turbidez (escaneos espectrofotométricos de agua sin filtrar), fue calculado a partir del coeficiente de atenuación de la luz siguiendo la ecuación de Lambert-Beer, $I_z = I_0 e^{(-K_d z)}$ (Kirk, 1994), donde z es la profundidad en la que se desarrolla el perifiton. La luz disponible fue expresada como radiación fotosintéticamente activa (RFA) en el fondo del arroyo en $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.



Experimento de Campo

Los efectos de la disponibilidad de luz sobre los productores primarios fueron estudiados en un experimento *in situ* en el arroyo Blanco durante dos semanas en verano (Enero 2013). Se establecieron tres condiciones diferentes de luz (Máxima: 100%, Media: 37% y Mínima: 14% de la radiación solar). La disponibilidad de luz fue manipulada utilizando

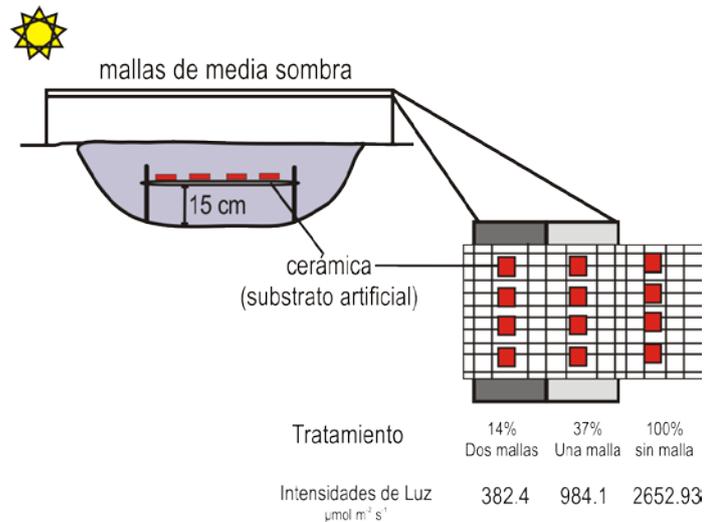


Figura III.2: Detalle del experimento realizado, y de las condiciones lumínicas bajo cada nivel experimental fuera del agua y bajo la malla.

mallas neutras (tipo media sombra). Para alcanzar los niveles deseados de irradiancia se colocaron: 2 mallas para obtener 14%, 1 malla para el 37% y ninguna malla para el 100% (Figura III.2). Estas mallas se colocaron 15 cm por encima de la superficie del arroyo y fueron fijadas con clavijas de metal a 1 m de los márgenes del arroyo. Se colocaron sustratos artificiales (cerámicas de 6 x 6 cm) a 15 cm del lecho del arroyo (para evitar la presencia de herbívoros) y a 15 cm de la superficie del agua. Se realizaron 4 réplicas por tratamiento, y durante el transcurso del experimento la temperatura y la profundidad del arroyo fueron monitoreadas utilizando un registrador automático de datos (U20 HOBO Onset, Bourne, MA, EE.UU.).

Después de dos semanas de exposición a las diferentes condiciones de luz, se estimaron los parámetros fotosintéticos *in situ* en el cenit en días despejados (qP , Y , NPQ , Y/qP y ETR_r) para cada cerámica con el fluorómetro WATER-PAM equipado con una unidad de fibra óptica Water-EDF. Luego, cada cerámica fue colocada individualmente en un recipiente de plástico e inmediatamente fueron transportadas al laboratorio en condiciones de oscuridad en contenedores aislados térmicamente. En el laboratorio, las cerámicas fueron raspadas y se siguieron los procedimientos que se aplicaron anteriormente a las muestras naturales (piedras), y se estimaron los mismos parámetros de $Cl-a$ y nutrientes.

Durante este período, el cielo estuvo generalmente despejado, con una irradiancia máxima durante del día de RFA de $2784,9 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las máximas incidencias para RUV a 320 y 340 nm fueron $44,8$ y $78,1 \mu\text{W cm}^{-2} \text{nm}^{-1}$



respectivamente. Todas las intensidades de radiación fueron medidas con el radiómetro PUV500B utilizado anteriormente.

Análisis de la comunidad algal

Las algas del perifiton fueron identificadas, posteriormente se contaron y fueron medidas con un microscopio directo Olympus BX50 usando cámaras tipo Sedgwick-Rafter de 0,0088 mL. Las dimensiones de las células fueron medidas y procesadas con un sistema de análisis de imágenes (Image ProPlus; Media Cybernetics, Warrendale, PA, EE.UU.), y el volumen celular fue estimado mediante la medición de un mínimo de 20 células por especie por muestra para estimar las dimensiones medias. Luego cada especie fue acotada a la forma geométrica más aproximada (Sun y Liu, 2003). El biovolumen de los talos mucilaginosos, se basó en las mediciones de las células individuales y no se incluyó la capa mucilaginosa. La identificación de las diatomeas se realizó en preparados permanentes con las valvas limpias montadas en portaobjetos de vidrio utilizando resina Naphrax™.

Análisis estadístico y cálculos

Todos los datos fueron analizados con Sigma Plot.12 (Systat Software Inc, San Jose, CA, EE.UU.). Se llevaron a cabo pruebas t pareadas (normalidad en las diferencias e igualdad de las varianzas) o pruebas de Wilcoxon (sin normalidad y/o sin igualdad de varianza) para detectar los efectos de la turbidez sobre los parámetros físico-químicos y fotosintéticos. Para comparar los resultados experimentales, se realizó un ANOVA de una vía o Kruskal-Wallis. Las relaciones entre STS (mg L^{-1}), turbidez (NTU), la irradiancia en fondo del arroyo ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), $\text{Cl-}a$ (mg m^{-2}), $\text{C:Cl-}a$ (g g^{-1}), C:P (atómico) y parámetros fotosintéticos (qP, Y, NPQ, Y/qP y ETRr) se analizaron utilizando correlaciones de Pearson y correlaciones de Spearman; cuando se encontraron relaciones significativas, se realizaron regresiones lineales. Cuando los datos siguieron una regresión no lineal, se utilizó un ajuste dinámico.



Resultados

Los arroyos

Se encontraron diferencias significativas entre el arroyo Negro (aguas turbias) y el arroyo Blanco (aguas claras), especialmente en el contenido de STS (test-t, g.l. = 7, $p = 0,004$). La concentración de STS en el arroyo Negro fue dieciséis veces mayor que el promedio del arroyo Blanco ($50,2 \pm 35,1 \text{ mg L}^{-1}$ y $2,8 \pm 4,0 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente).

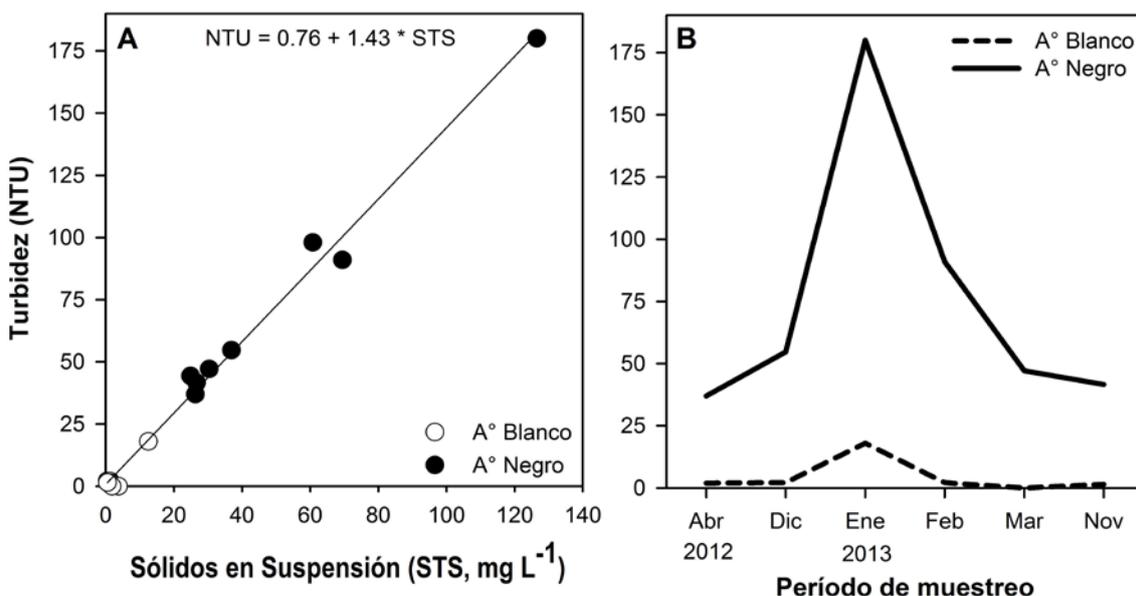


Figura III.3: (A) Relación entre sólidos totales en suspensión (STS) y la turbidez ($r^2 = 0,99$; g.l. = 15, $p < 0,001$). (B) Concentraciones de STS durante el período de muestreo.

No se encontraron diferencias en la concentración de STS entre los puntos de muestreo superior e inferior a la confluencia, en cada arroyo. Por lo tanto, se agruparon todos los datos tomados para analizar la relación entre la turbidez (NTU) y la concentración de STS, y se obtuvo una regresión positiva altamente significativa (Figura III.3 A). Los escaneos espectrofotométricos del agua sin filtrar mostraron que la arcilla en suspensión no tuvo mayor absorción en ninguna longitud de onda específica, y todo el espectro que va de 250 a 700 nm fue igualmente reducido por la presencia de arcillas. En consecuencia, la RUV varió de acuerdo a los cambios que ocurrieron en la RFA (regresión lineal $r^2 = 0,94$; g.l. = 7, $p < 0,001$). Por consiguiente, la disponibilidad de luz para el crecimiento del perifiton fue significativamente menor en el arroyo Negro debido a la alta concentración de arcillas en suspensión (Tabla III.1). Además, se observaron cambios en la turbidez en las diferentes fechas de muestreo, especialmente en enero (mitad del verano) en el arroyo Negro, como también en el arroyo Blanco pero en un rango de variación mucho menor (Figura III.3 B). En contraste con las



condiciones de luz observadas, las concentraciones de PTD fueron similares, sin diferencias significativas entre los arroyos (Tabla III.1). Asimismo, la relación atómica NT: PT no mostró diferencias entre los arroyos (Negro: $38,4 \pm 20,5$; Blanco: $34,5 \pm 12,4$). La concentración de COD fue muy baja en ambos arroyos, y no hubo diferencias entre ellos (Negro: $0,7 \pm 0,1 \text{ mg L}^{-1}$; Blanco: $0,4 \pm 0,2 \text{ mg L}^{-1}$).

Tabla III.1: Parámetros de luz y nutrientes de los arroyos Blanco (B) y Negro (N) medidos en 8 muestreos; adicionalmente, en febrero y marzo se midió en la zona cercana a la confluencia de ambos arroyos (valores en *cursiva*). Luz refiere a RFA ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) disponible en fondo del arroyo (a 25 cm de profundidad). PTD (fósforo total disuelto). Dosis diaria: RFA (mol m^{-2}) y RUV 320 nm ($\text{kJ m}^{-2} \text{ nm}^{-1}$). La dosis diaria se calcularon basándose en datos de Dic-Ene-Feb mediante la integración de un día.

	Dosis diaria		Luz (RFA)		PTD ($\mu\text{g L}^{-1}$)		P del perifiton (mg m^{-2})		C del perifiton (mg m^{-2})		C:P del perifiton (Atómico)	
	RFA	UV-320	B	N	B	N	B	N	B	N	B	N
abr-12	37,6	3,9	2115	1220	19,1	23,9	4,2	8,9	15,5	53,4	95,6	155,1
dic-12	66,5	8,8	2006	885	21,5	29,7	2	4,8	10,4	30,2	134,4	162,4
ene-13	60,2	7,0	1420	131	26,0	24,0	5,7	2,6	22,4	78,4	101,7	778,9
feb-13	57,5	6,3	1859	518	6,4	11,8	5,1	9,3	24,8	82,1	125,6	228,1
			<i>1982</i>	<i>392</i>	<i>5,4</i>	<i>6,4</i>	<i>2,4</i>	<i>6,0</i>	<i>10,6</i>	<i>73,4</i>	<i>113,9</i>	<i>315,9</i>
mar-13	42,9	4,5	1808	969	16,5	18,4	4,8	3,2	29,2	26,9	157,3	217,4
			<i>2147</i>	<i>959</i>	<i>16,1</i>	<i>16,1</i>	<i>3,6</i>	<i>2,9</i>	<i>23,1</i>	<i>24,5</i>	<i>165,7</i>	<i>218,3</i>
nov-13	51,8	5,8	1894	1152	21,0	22,6	4,2	11,0	23,9	86,1	146,9	202,3
Media	51,5	5,9	1903	778	16,5	19,1	4,0	6,1	20,0	56,9	130,1	284,8
Test			Test- <i>t</i> pareado		Test- <i>t</i> pareado		Test- <i>t</i> pareado		Test- <i>t</i> pareado		Wilcoxon	
<i>p</i> -valor			<i>p</i> < 0,001		<i>p</i> = 0,061		<i>p</i> = 0,141		<i>p</i> = 0,006		<i>p</i> = 0,008	



Biomasa y relaciones elementales del Perifiton

La biomasa del perifiton (como la concentración de Cl-*a* en mg m⁻²) varió durante los muestreos (Figura III.4 A); y también existieron diferencias significativas entre los arroyos Negro y Blanco. Se encontró mayor concentración de clorofila en el arroyo Negro que en el arroyo Blanco ($12,1 \pm 9,3$ y $0,6 \pm 0,5$ mg m⁻², respectivamente, test-*t*, g.l. = 7, $p = 0,005$), lo que muestra una relación directa con la turbidez (Figura III.4 B). La concentración de C del perifiton del arroyo Negro fue dos veces mayor que la del arroyo Blanco ($65,5 \pm 38,12$ y $28,1 \pm 19,7$ mg m⁻², respectivamente, test-*t*, g.l. = 5, $p = 0,028$). La relación C:Cl-*a* (g g⁻¹) respondió también a los cambios en las condiciones lumínicas, mostrando un incremento exponencial cuando la disponibilidad de la luz se incrementa (Figura III.5 A). Sin embargo, las diferencias en la concentración de P del perifiton no fueron significativas diferentes entre ambos arroyos (Tabla III.1). La relación C: P fue significativamente mayor en arroyo Negro (Tabla III.1, Wilcoxon, $n = 8$, $p = 0,008$) y se observó una relación de decaimiento exponencial entre el C: P del perifiton y la mayor disponibilidad de luz (Figura III.5 B).

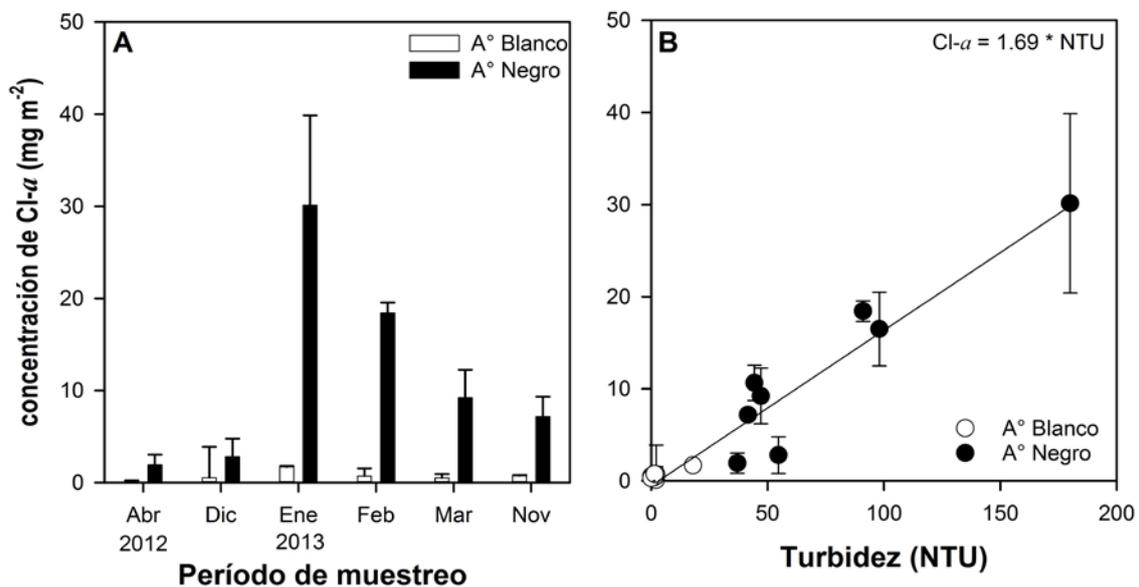


Figura III.4: (A) Concentración de clorofila *a* del perifiton durante el período de muestreo y (B) relación entre la turbidez y la concentración de clorofila *a* ($r^2 = 0,91$; g.l. = 15, $p < 0,001$).

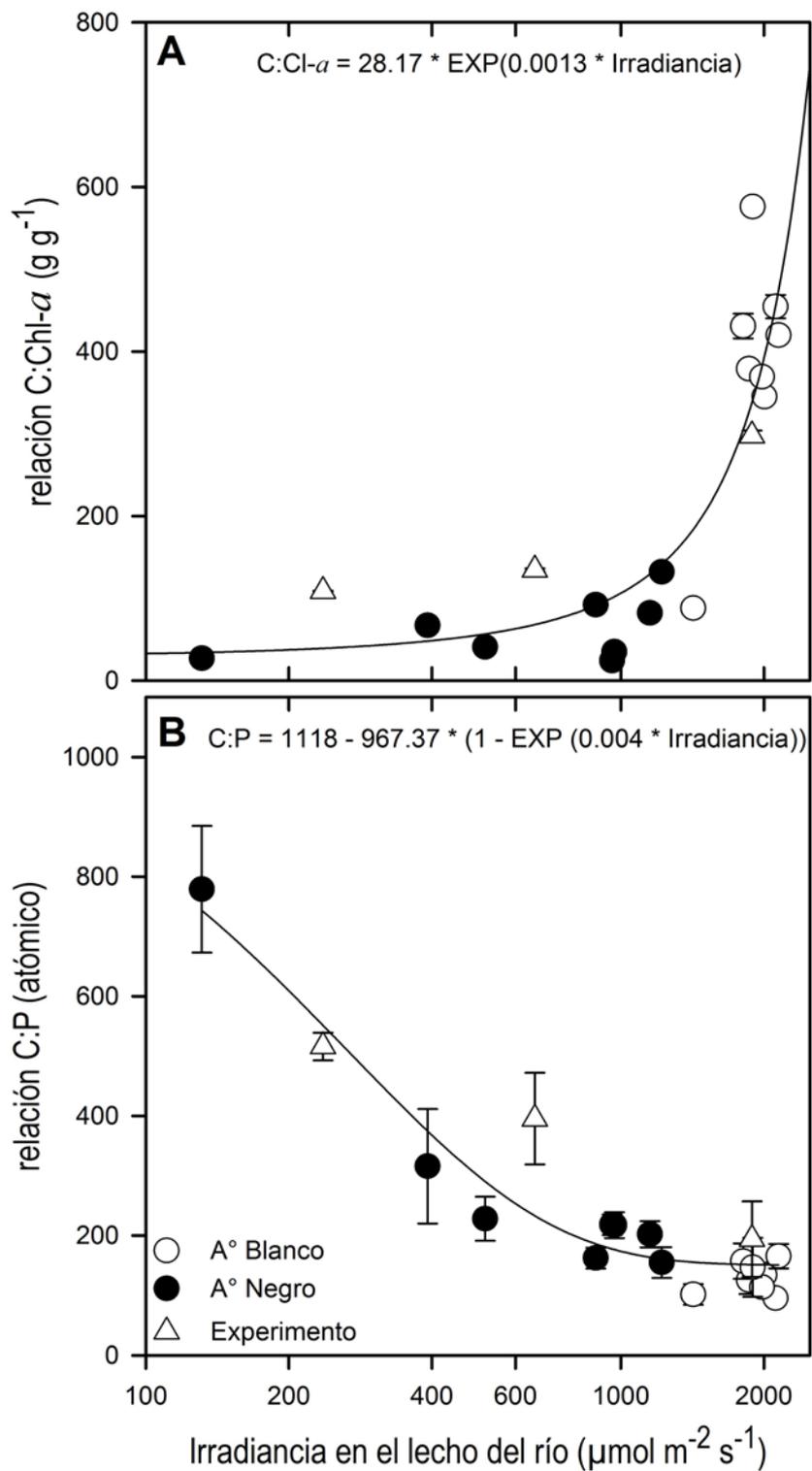


Figura III.5: Las relaciones entre la luz disponible y (a) la relación C: Chl- α de los productores primarios del perifiton ($r^2 = 0,83$; g.l. = 18, $p < 0,0001$) y (b) la relación C: P del perifiton ($r^2 = 0,90$; g.l. = 18, $p < 0,0001$).



Parámetros Fotosintéticos

Los parámetros fotosintéticos (Figura III.6 A) fueron estimados utilizando la media de las mediciones realizadas con el PAM durante el pulso de luz actínica, para cada fecha de muestreo en los dos arroyos. Los diferentes parámetros fotosintéticos estuvieron estrechamente relacionados con la disponibilidad de luz (a causa de la turbidez) ya que la eficiencia fotosintética por centro reactivo abierto del FSII (Y/qP) se incrementa a medida que la disponibilidad de luz disminuye (Figura III.7 A). Por lo tanto, la fotosíntesis se vio afectada por la turbidez. La eficiencia en la utilización de la luz en el sistema fotoquímico ($Y = \Delta F/F'_m$) fue significativamente más alta en el arroyo Negro que en el Blanco (test- t , g.l. = 6, $p = 0,008$), así como la eficiencia por centro reactivo abierto (Y/qP , test- t , g.l. = 6, $p < 0,001$).

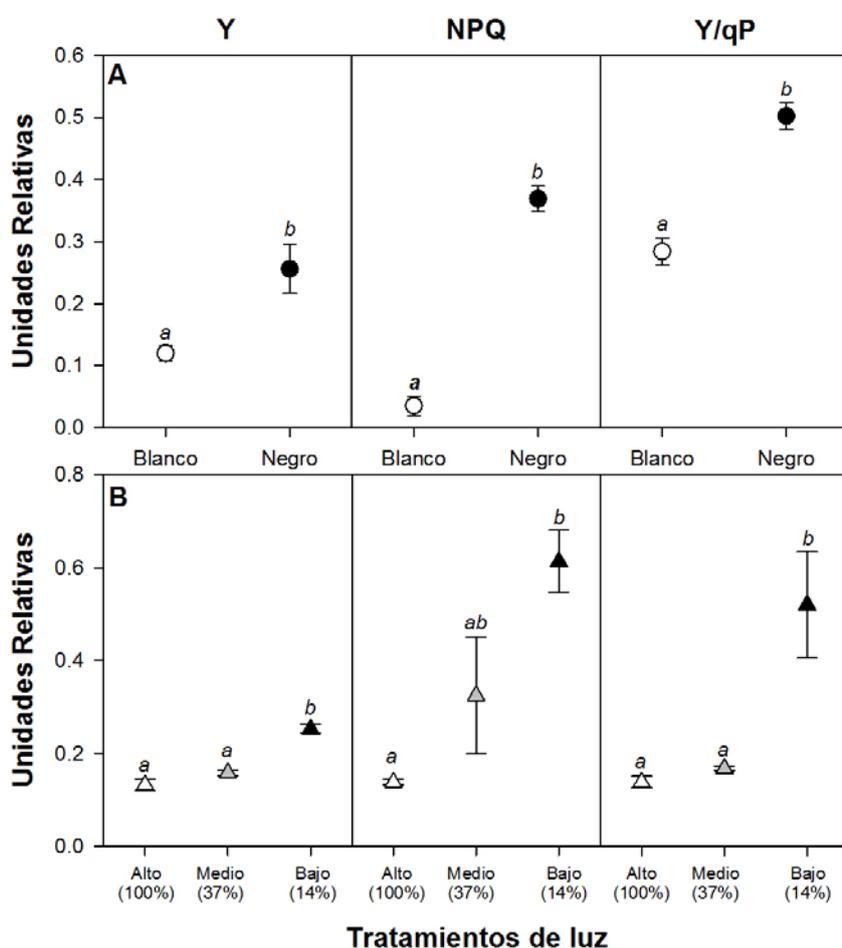


Figura III.6: (A) Parámetros fotosintéticos (rendimiento cuántico efectivo: $Y = \Delta F / F'_0$, extinción no fotoquímica, a través de la disipación térmica: NPQ, y la eficiencia fotosintética por centro reactivo abierto: Y/qP) en los dos arroyos (círculos abiertos: Blanco, círculos rellenos: Negro). (B) Parámetros fotosintéticos en los tratamientos experimentales (triángulos en blanco 100% de la luz incidente, triángulos grises 37% de la luz incidente y triángulos negros 14% de la luz incidente). Los datos se presentan como medias y los errores estándar.



Se observó una disminución en el NPQ mientras se incrementa la disponibilidad de luz, como muestra la curva de decaimiento exponencial a medida que se incrementa la disponibilidad de luz (Figura III.7 B). El NPQ fue 10,5 veces mayor en el arroyo Negro (test-*t*, g.l. = 6, $p < 0,001$), aunque el arroyo Blanco tenía condiciones de luz saturante. En las curvas de luz obtenidas (CL), también se observaron diferencias entre los arroyos en la ETRr y el NPQ (Figura III.8). En particular, en el arroyo Blanco se encontró una menor ETRr (Figura III.8 A) y también menor disipación térmica (Figura III.8 B).

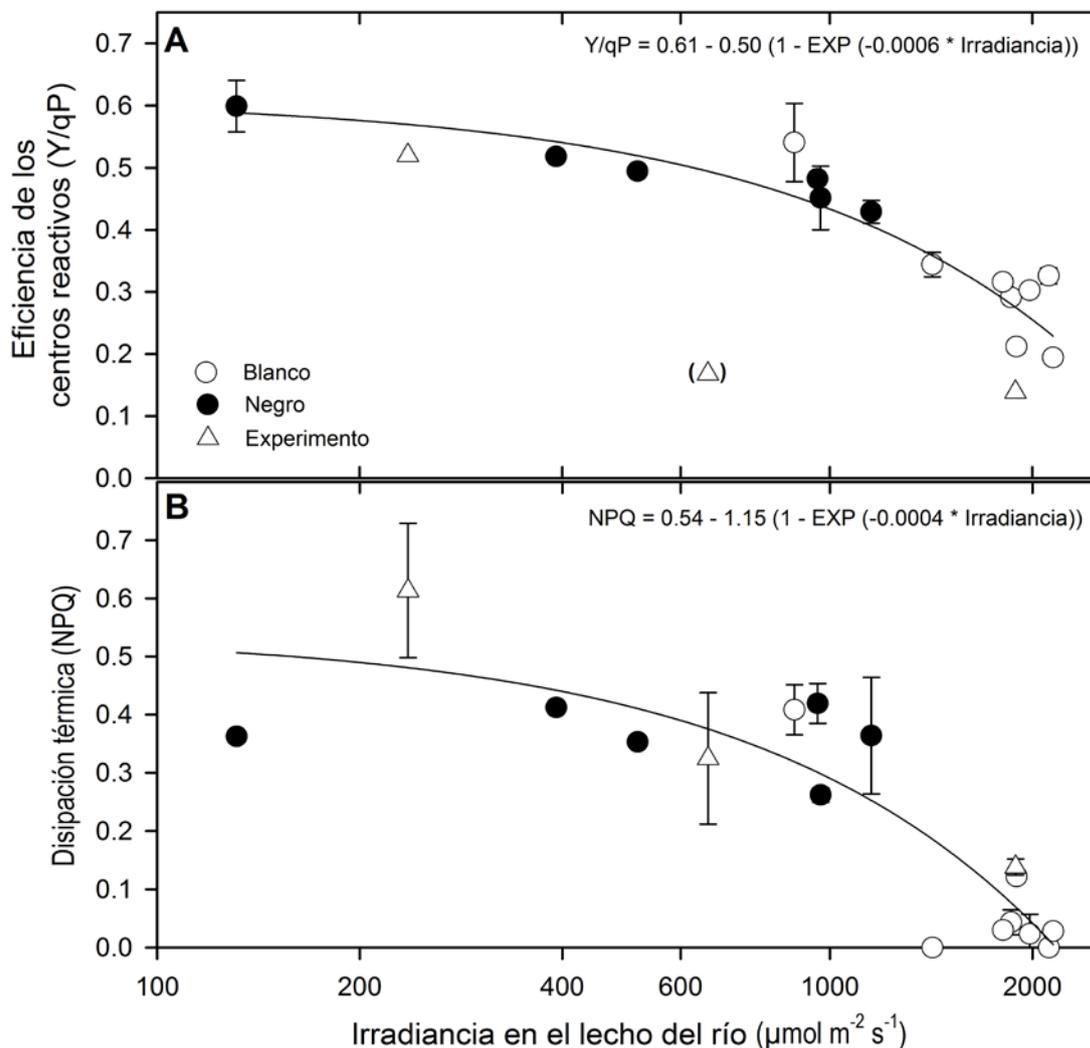


Figura III.7: Las relaciones entre la luz disponible en el lecho del río y (A) la eficiencia por centro reactivo abierto (Y/qP) ($r^2 = 0,54$; g.l. = 16, $p = 0,004$) y (B) la extinción no fotoquímica, a través de la disipación térmica (NPQ) ($r^2 = 0,79$; g.l. = 13, $p = 0,0002$).

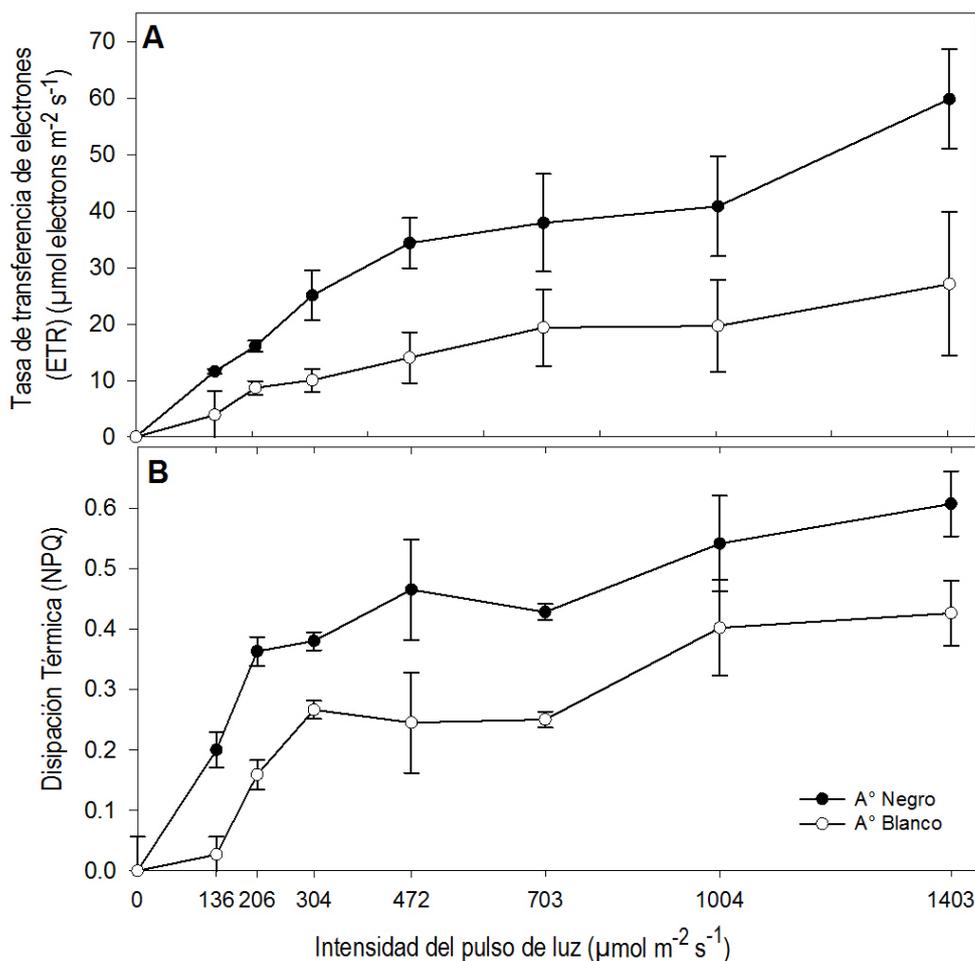


Figura III.8: Curvas rápidas de luz en los dos arroyos (todas las fechas de muestreo se agruparon, y los datos se presentan como medias con sus respectivos errores estándar. (A) La tasa relativa de transferencia de electrones (ETR) en el PSII y (B) la disipación térmica a través de la extinción no fotoquímica (NPQ).

Estudio Experimental

Durante las dos semanas de experimentación, la temperatura varió en un rango estrecho entre 9,3 y 12,1°C, la relación NT: PT en el agua fue de $32,4 \pm 10,2$ y la concentración de P en la misma permaneció casi invariable ($PTD = 14,7 \pm 1,5 \text{ mg L}^{-1}$). Por lo tanto, la principal variable en el experimento fue la luz.

En los sustratos artificiales (cerámicas), la concentración de Cl-*a* y C, así como también los parámetros fotosintéticos (Figura III.6 B) estuvieron relacionados con las condiciones experimentales de luz. Al final del experimento, se encontraron diferencias significativas (ANOVA, $F_{2,9} = 16,4$, $p < 0,001$) en la concentración de Cl-*a* (14% tratamiento de luz = $2,8 \pm 0,3$; 37% = $1,6 \pm 0,3$; y 100 % = $1,6 \pm 0,3 \text{ mg m}^{-2}$), siendo mayor la concentración en el tratamiento de 14% en comparación con los otros tratamientos (100% y 37%, *a posteriori* Tukey test, $p = 0.002$). También encontré



diferencias significativas en la concentración de C (ANOVA, $F_{2,8} = 33,8$, $p < 0,001$): 14% = $30,3 \pm 3,4$ mg C m⁻², el 37% = $20,6 \pm 1,8$ mg C m⁻² y el 100% de la luz incidente = $14,0 \pm 2,6$ mg C m⁻² (*a posteriori* Tukey test, entre todos los pares $p < 0,05$). La relación C:Cl-*a* también mostró diferencias significativas (ANOVA, $F_{2,8} = 31,1$; $p < 0,001$) entre todos los tratamientos (*a posteriori* Tukey test, entre todos los pares $P < 0,001$), siendo esta relación mayor en el tratamiento de 100% de luz incidente. Asimismo estos datos se ajustaron a los obtenidos durante los muestreos en los arroyos (Figura III. 5 A, ver triángulos) demostrándose que se sigue el mismo patrón observado habiendo sólo experimentalmente manipulado la luz.

La concentración de P del perifiton no varió entre tratamientos (ANOVA, $F_{2,9} = 1,1$, $p = 0,4$). Sin embargo debido al cambio en la concentración de C en el perifiton, se observaron diferencias significativas en la relación C:P (ANOVA, $F_{2,8} = 24,6$, $p < 0,001$, ver triángulos en la Figura III.5 B). El tratamiento de luz total (100%) se diferenció de los otros dos tratamientos en donde había menos disponibilidad de luz (100% vs 14% *a posteriori* Tukey test, $p < 0,001$; and 100% vs. 37% *a posteriori* Tukey test, $p = 0,006$), mientras que no hubo diferencias significativas entre los otros dos tratamientos (14% y 37%, *a posteriori* Tukey test, $p = 0,06$).

Se observó mayor eficiencia fotosintética Y en el tratamiento de 14% (Figura III.6 B, ANOVA, $F_{2,9} = 41,5$; $p < 0,001$) y mostrando diferencias significativas con los tratamientos de 37% y 100% de luz (*a posteriori* Tukey test, $p < 0,001$ en ambas comparaciones). Los tratamientos de 100% y de 37% no mostraron diferencias significativas entre sí (*a posteriori* Tukey test, $p = 0,2$). También se encontró una mayor eficiencia por centro reactivo (Y/qP) en el tratamiento de 14%, comparado con los otros dos tratamientos (Figura III.6 B; ANOVA, $F_{2,8} = 14,4$, $p = 0,002$, *a posteriori* Tukey test, $p < 0,01$). La disipación térmica a través de NPQ, fue significativamente mayor en el tratamiento de 14% de luz (ANOVA, $F_{2,8} = 7,07$, $p = 0,02$, *a posteriori* Tukey test, 14% vs. 100% $p = 0,01$).

Algas del perifiton

Diatomeas, clorofitas y cianobacterias fueron los componentes principales del perifiton en ambos arroyos. En las piedras del arroyo Blanco la comunidad estaba constituida por una fina capa cohesiva dominada por diatomeas de crecimiento postrado y/o con pedúnculos cortos, como *Gomphonema intricatum* Kützing (Figura III.9 A y B) y *Hannae* sp. (Figura III.9 C), que representaron más del 80% del biovolumen durante



todo el estudio. Por el contrario, las algas verdes filamentosas (principalmente *Ulothrix* sp., Figura III.9 D) estuvieron presentes durante todos los períodos de muestreo en el arroyo Negro, y en principios del otoño la crisofita *Hydrurus foetidus* (Villars) Trevisan (Figura III.9 E) fue la dominante, formando una densa mata algal (90% del total del biovolumen). Dentro de esta matriz, diatomeas como *Diatoma* sp. (Figura III.9 F) y *G. intricatum* fueron observadas. Asimismo, diferentes cianobacterias estuvieron presentes en ambos arroyos. La abundancia del perifiton rondó las $6.4 \times 10^4 \pm 5.68 \times 10^4$ células por cm^2 en el arroyo Blanco, mientras que el arroyo Negro tuvo mayor abundancia ($1.4 \times 10^5 \pm 7.3 \times 10^4$ células cm^{-2}).

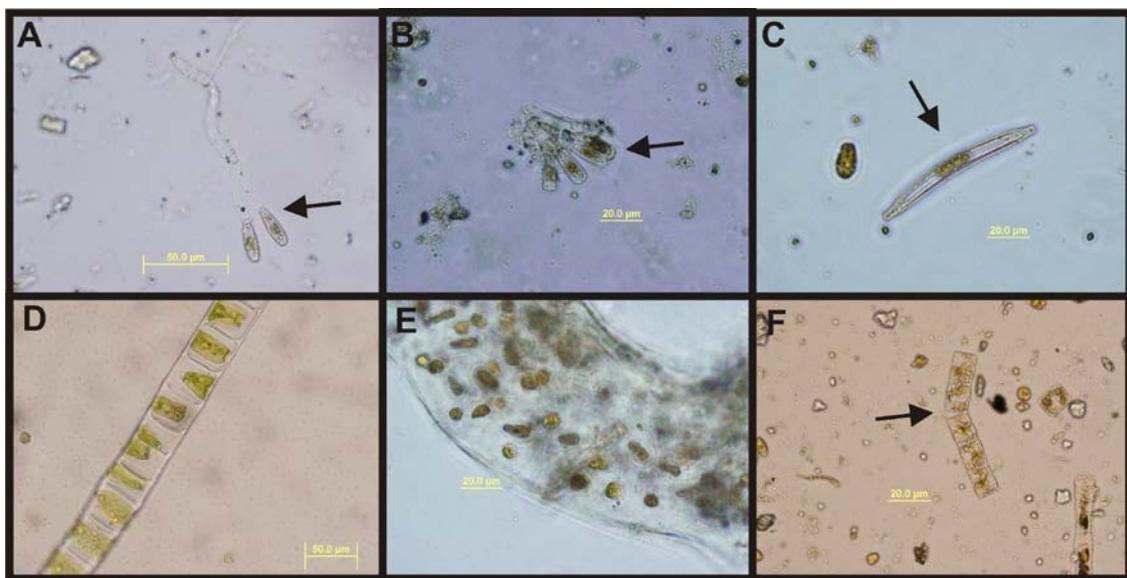


Figura III.9: Fotos (A) pedúnculos y células de *Gomphonema* sp. (B) células de *Gomphonema intricatum* (C) célula de *Hannaea* sp (D) filamento de *Ulothrix* sp. (E) talo gelatinoso de *Hydrurus foetidus* (F) pseudofilamento de *Diatoma* sp.

El alga verde *Ulothrix* respondió positivamente al incremento de la turbidez (Spearman's $\rho = 0,8$; g.l. = 10, $p = 0,009$) esto fue evidente durante el aumento de la turbidez en el arroyo Blanco, mientras que en ese período *G. intricatum* disminuyó (Spearman's $\rho = -0,8$; g.l. = 10, $p = 0,005$). Este cambio en la abundancia de especies del perifiton fue evidente durante el verano (enero) contemporáneamente al aumento de la concentración de clorofila en el arroyo Blanco, cuando la turbidez en una semana pasó de 2 a 18 NTU. Durante el mismo período, el arroyo Negro aumentó de 54 a 180 NTU, pero no se registraron cambios significativos en las especies que conforman la comunidad perifítica.



Por último es importante destacar que existieron también diferencias en la composición comunitaria en los tratamientos experimentales. Mientras que *Ulothrix* sp. dominó en el tratamiento de 14% y 37% de luz, en el tratamiento de mayor exposición lumínica (100%) encontramos una fina capa dominada por *Hannae* sp. y *G. intricatum*.

Discusión

Los productores primarios del perifiton se vieron afectados por los cambios en las condiciones de luz debido a la entrada de arcilla glaciar, donde una disminución en la disponibilidad de luz estuvo asociada con un aumento de la Cl-*a*. La variación del contenido de arcilla glaciar en suspensión fue la principal reguladora de la atenuación tanto de la RFA como de la RUV, ya que se encontró que la atenuación a causa del COD fue insignificante, debido a que las concentraciones fueron muy bajas. Las interacciones clorofila-luz fueron observadas en ambos arroyos (turbio y transparente), así como también en el experimento en donde se modificaron únicamente las condiciones lumínicas. Un aumento en el contenido de Cl-*a* en los productores primarios conduce a un aumento en la eficiencia fotosintética debido a la baja disponibilidad de fotones (Hill *et al.*, 2009). Como consecuencia de la baja disponibilidad de luz, los autótrofos suelen aumentar la clorofila y de esta forma incrementan el tamaño de la antena y también aumentan los centros de reacción del FSII para mejorar la captura de la luz y la transferencia de energía (Schansker *et al.*, 2011). Alternativamente, pueden incrementar la síntesis de los cloroplastos con mayor número de membranas (Horton *et al.*, 2008). De hecho, se encontró menor concentración de Cl-*a* en el arroyo Blanco que en arroyo Negro, pero lo más importante fue el aumento en la relación C:Cl-*a*, lo que reflejó una disminución en la clorofila por cada unidad de C en el arroyo que se encontraba expuesto a alta irradiancia (19.5 veces mayor contenido de Cl-*a* en el arroyo Negro que en el Blanco). En un trabajo de arroyos del mundo Frost *et al.* (2005c) observaron que más del 60% de las muestras de perifiton tenían una relación C:Cl-*a* menor a 200 y sólo el 25% tenían un cociente que superaba 500. Los datos obtenidos en este estudio se encuentran enmarcados dentro de este límite superior, en particular el arroyo Blanco y el tratamiento experimental de 100% de luz, mientras que los valores del arroyo Negro y los tratamientos de menor luminosidad se encontraron por debajo de 200, indicando la prevalencia de organismos autotróficos.

Los resultados del análisis de las funciones fotosintéticas muestran un incremento en la eficiencia por cada centro reactivo del FSII a medida que la turbidez



aumenta, lo que demuestra que el perifiton en el arroyo Negro posee una eficiencia más alta por centro reactivo abierto que el arroyo Blanco (Figura III.6 A y Figura III.7 A). Cuando aumenta la intensidad de luz por encima de los $1000 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Murata *et al.*, 2012), la tasa de reparación se reduce, lo que altera el equilibrio entre fotodaño y reparación, y por lo tanto la actividad fotoquímica del FSII disminuye significativamente (Nishiyama *et al.*, 2011), tal como se observó en los resultados obtenidos en el Arroyo Blanco para el período de verano estudiado y en el experimento con 100% de irradiancia. Para prevenir este desequilibrio, el decaimiento no fotoquímico (NPQ) disipa el exceso de luz capturada como calor (Horton *et al.*, 2008), particularmente bajo condiciones de moderado exceso de luz y cuando el daño acumulado en los centros reactivos del FSII es bajo. La exposición prolongada a alta irradiación puede provocar fotoinhibición crónica (Häder *et al.*, 2011) que se caracteriza por una disminución en el transporte fotosintético de electrones (Critchley y Russell, 1994), debido a que se promueve el transporte de electrones no asimilatorio, cuya función es la disipación del exceso de energía capturado (Schansker *et al.*, 2011; Takahashi y Badger, 2011). Este efecto de larga exposición a la alta irradiación fue evidente en el arroyo Blanco (agua transparente), donde casi no había disipación del exceso de energía a través del NPQ (Figura III.6 A y Figura III.7 B), y había una marcada disminución en el ETRr en las curvas de luz (Figura III.8 A). Por lo tanto, el NPQ protege al FSII contra las condiciones de alta irradiancia a corto plazo (Müller *et al.*, 2001; Nishiyama *et al.*, 2011). En este sentido, el NPQ es un proceso fotoprotector que puede prevenir el daño antes de que ocurra (Murchie y Niyogi, 2011). Por lo tanto, se ha podido identificar dos tipos diferentes de fotoinhibición: (1) condiciones previas de poca disponibilidad de luz (arroyo Negro) en el que la energía excesiva es disipada térmicamente (NPQ) con una alta captura de fotones a través de la antena, y (2) condiciones previas de alta disponibilidad de luz (arroyo Blanco) que provocan una disminución en el transporte de electrones (ETRr) con una baja disipación de energía a través del NPQ debido a la baja captura de fotones a través de la antena. Bajo condiciones de alta irradiancia, la tasa relativa de transferencia de electrones (ETRr) disminuyó significativamente para evitar la sobrecarga del sistema con exceso de fotones, que no pueden ser disipados térmicamente (NPQ) (Häder *et al.*, 2002; Schansker *et al.*, 2011). En ambos casos, el pulso del PAM consistió en $1004 \mu\text{mol de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, que representa un flujo normal de fotones para el arroyo Blanco (mientras que $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ es la irradiancia máxima al mediodía), pero representa



más del 50% del máximo al mediodía en un día soleado en el arroyo Negro ($750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Esto significa que la maquinaria fotosintética del arroyo Blanco está preparada para la exposición a alta irradiancia y la antena colectó una baja proporción de la luz, con un bajo requerimiento para la disipación y por lo tanto un bajo NPQ. En contraste, frente una adaptación a condiciones de baja disponibilidad lumínica como en el arroyo Negro, las antenas estaban listas para capturar una mayor proporción de luz incidente, toda aquella energía que sobraba del pulso fue disipada térmicamente y de ahí los altos valores del NPQ. Los parámetros fotosintéticos (particularmente $Y = \Delta F/F'_m$ y NPQ) difieren entre arroyos y también entre los tratamientos del experimento (Figura III.6 A y B), en respuesta a la turbidez y a las intensidades lumínicas. La turbidez del agua no sólo reduce la intensidad de la luz en el espectro de la RFA (400-700 nm), sino también en el rango de la RUV, y se ha demostrado que tanto el rendimiento cuántico de FSII y como la fijación de C en los autótrofos disminuye con un aumento de la radiación RUV (Villafañe *et al.*, 1999; Modenutti *et al.*, 2004; Leu *et al.*, 2006). También frente altas intensidades de RFA+RUV en el arroyo Blanco, y en el tratamiento experimental de 100%, se observó una reducción en el rendimiento cuántico efectivo (Y), seguido por una disminución en la eficiencia por centro reactivo abierto del FSII (Y/qP), que disminuyó el número de fotones absorbidos y por lo tanto transportados (ETRr).

Se podría esperar que la carga de arcillas, debido a la abrasión, afecte negativamente a la comunidad del perifiton (Davies-Colley *et al.*, 1992). Sin embargo, se observó que el incremento en la entrada de arcillas estaba relacionado con un aumento en el contenido de Cl-a, en ambos arroyos (Figura III.4 A). Por lo tanto, si existe cualquier efecto negativo a causa de la abrasión de la arcilla, se puede considerar despreciable en comparación con el efecto de la turbidez sobre la luz. De acuerdo con la hipótesis de luz: nutrientes (Sterner *et al.*, 1997) y los estudios que han informado que el balance entre luz y nutrientes determinan el contenido de nutrientes de las algas (Fanta *et al.*, 2010), se predijo que el ingreso de arcilla glaciar disminuirían la relación C:P del perifiton. No obstante, se observó la situación opuesta, una disminución en la relación C:P frente a un aumento en la disponibilidad de la luz en ambos arroyos y en el experimento. Este resultado puede deberse a la influencia de RUV y la alta RFA que alcanza al perifiton. En arroyos libres de dosel, como los estudiados aquí, la luz solar completa (RFA + RUV) llega a la superficie del arroyo sin sufrir interferencias. Por el contrario, en el experimento de laboratorio realizado por Fanta *et al.* (2010), el perifiton fue expuesto a la luz artificial (sin RUV) en la parte más baja del rango de la RFA de



nuestro estudio. El componente RUV de la luz solar afecta negativamente el rendimiento cuántico y la fijación de C y, en consecuencia, reduce la relación C:P de los productores primarios (Xenopoulos *et al.*, 2002; Leu *et al.*, 2006). Aunque también se ha sugerido que la materia orgánica disuelta afecta la estequiometría del perifiton más que la RUV (Frost *et al.*, 2007), los arroyos estudiados tienen concentraciones muy bajas ($\text{DOC} \leq 0,6 \text{ mg L}^{-1}$), un orden de magnitud menor que la del estudio de Frost *et al.* (2007). Los sistemas patagónicos reciben altas dosis de RUV debido al adelgazamiento de la capa de ozono (Häder *et al.*, 2007) y los productores del perifiton de los arroyos libres de dosel están particularmente expuestos. Además, en los arroyos de bajo orden con baja concentración de COD las algas son más sensibles al estrés por RUV a bajas temperaturas y a alta RFA (Uehlinger *et al.*, 2010). La arcilla en suspensión en un arroyo turbio protegería las algas del perifiton de la fotoinhibición, así como de los daños en el FSII producido por la RUV, como ocurre en el arroyo Negro, y en el experimento con un malla neutra (sin filtro diferencial de RUV). De hecho, tanto la concentración de Cl-*a* como la de C aumentaron cuando la concentración de arcillas se incrementó en el arroyo Blanco durante enero. El efecto dañino de la RUV también ha sido observado como un modelador de la biomasa de algas adheridas (McNamara y Hill, 2000) y de la estructura vertical del perifiton (Hodoki y Ohbayashi, 2005). En este sentido, es posible que en el arroyo Negro haya ocurrido una retroalimentación positiva. Esto significa que la luz no fue limitante en el arroyo Negro. La carga de arcillas inicialmente habría protegido a las algas de la luz solar (incluyendo la RUV); por lo tanto, se desarrolló una mata algal que, a su vez, permitió el crecimiento de nuevas algas, protegidas por el cambio en la estructura vertical del perifiton.

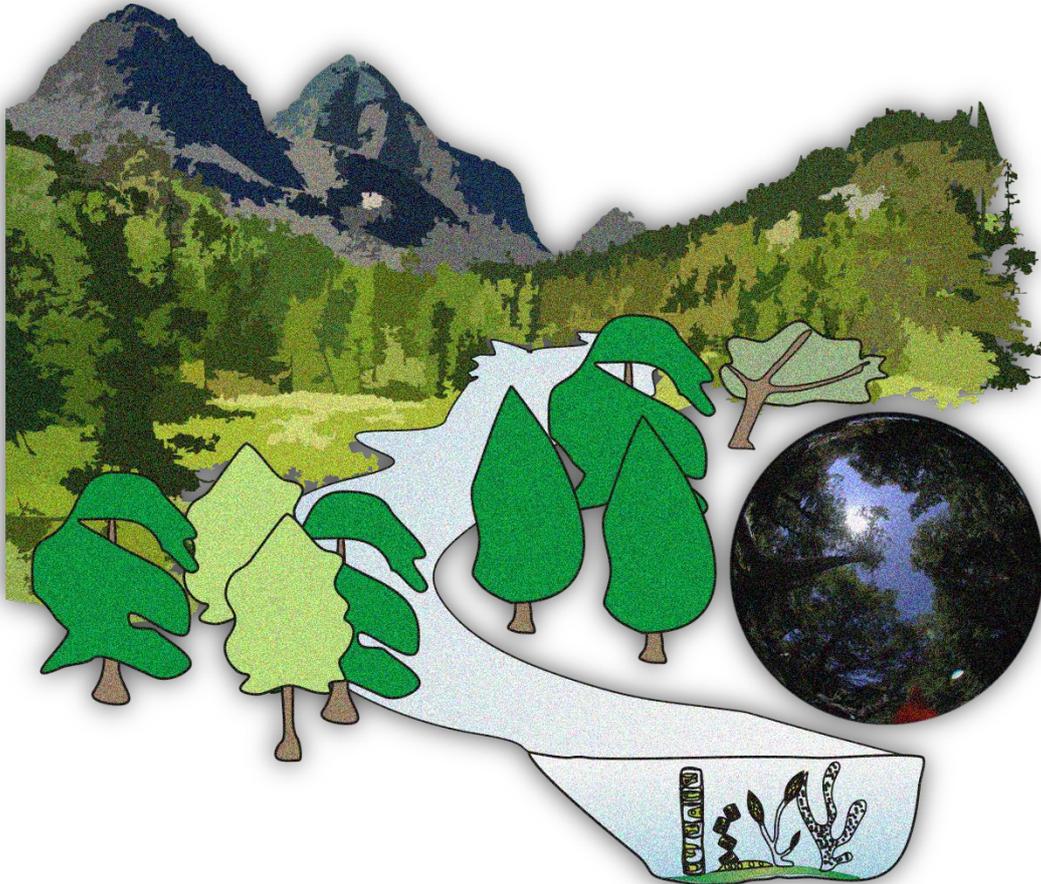
Los glaciares responden rápidamente al cambio climático, y la dinámica de los glaciares directamente afectan a los ecosistemas que ellos alimentan (Moore *et al.*, 2009). Los arroyos que reciben el agua de deshielo son particularmente vulnerables al cambio climático global y los factores de estrés asociados, ya que están relativamente aislados y fragmentados en el paisaje terrestre (Perkins *et al.*, 2010). En un escenario de calentamiento global, la recesión glacial tendrá lugar en todo el mundo y, por lo tanto, la transparencia de los arroyos que reciben agua de deshielo cambiará debido al cambio en la carga de arcillas en suspensión. Dependiendo de si aumenta la carga de arcillas o disminuye, el perifiton de estos arroyos se verá modificado en muchos aspectos, en términos de biomasa, contenido de Cl-*a* y también en calidad de alimento para los herbívoros; ya que la composición elemental del perifiton depende de la disponibilidad



de luz, así como también de la incidencia de la RUV. En el corto plazo, un aumento en el deshielo conllevará a un incremento en el contenido de arcillas en suspensión en los arroyos de deshielo y esto incrementará la biomasa algal pero con una menor calidad alimento. Sin embargo, a largo plazo, la carga de arcillas de los arroyos podría reducirse y, en consecuencia, aumentar la disponibilidad de luz, incluyendo RUV, lo que de acuerdo a mis resultados disminuiría la biomasa algal y la relación C:P. La consecuencia final es que el derretimiento de los glaciares puede cambiar de un perifiton con alto contenido de C y baja calidad, a un perifiton con bajo contenido de C y, por lo tanto, alimentos de mayor calidad para los niveles tróficos superiores.

CAPITULO IV

EFFECTOS DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA ESTRUCTURA DEL BOSQUE: RESPUESTA ESTEQUIOMÉTRICA DE LOS PRODUCTORES PRIMARIOS DE LOS ARROYOS DE MONTAÑA



Introducción

La mayoría de los glaciares en todo el mundo han estado en declive sostenido desde el final de la Pequeña Edad de Hielo en el siglo XIX (Dyrgerov, 2003; Meier *et al.*, 2003). A medida que los glaciares retroceden, nuevos paisajes y arroyos glaciares emergen. La evolución de estos cursos de agua y sus zonas ribereñas reflejan las interacciones entre el suministro de sedimentos, el régimen del caudal, y la vegetación. La continua recesión de los glaciares y los cambios en el paisaje relacionados afectan a las condiciones físicas, biogeoquímicas y ecológicas en los ríos glaciares (Cowie *et al.*, 2013), con implicancias para la composición de la comunidad acuática y la productividad del ecosistema.

A lo largo de la historia de la Tierra, el clima ha jugado un papel importante en el crecimiento de la vegetación, la composición y la variación genética a través de



diferentes paisajes (Williams y Dumroese, 2013). Cambios contemporáneos en nuestra atmósfera han causado que las temperaturas medias globales aumentaran a valores previamente experimentadas en el tiempo geológico (Marcott *et al.*, 2013), pero a una velocidad de cambio superior que durante períodos similares (Peters, 1990; Williams y Dumroese, 2013). Diferentes estudios han indicado que los bosques del mundo respondieron a las variaciones regionales del clima mediante la alteración de su área de distribución y densidad (McKenney *et al.*, 2007; Harsch *et al.*, 2009; Normand *et al.*, 2013; Rehm y Feeley, 2013). Sin embargo, estos cambios en la composición y la estructura de la vegetación dependen de la dispersión de semillas (Rehm y Feeley, 2013; Torres *et al.*, 2015), las barreras geográficas (Macias-Fauria y Johnson, 2013) y la tolerancia climática (Allen *et al.*, 2010). Bajo condiciones climáticas cambiantes, el bosque preferirá nuevos sitios más favorables para el establecimiento y crecimiento de árboles (Holtmeier y Broll, 2005; Magnin *et al.*, 2014; Álvarez *et al.*, 2015; Torres *et al.*, 2015) y la sensibilidad al cambio climático determinará la sustitución de especies del dosel (Young y Leon, 2007) y el riesgo de extinción de cada especie en sitios que se tornan desfavorables (Dirnböck *et al.*, 2011; Iglesias *et al.*, 2012). De esta manera se espera que la estructura y la dinámica del dosel se vean alteradas bajo el cambio climático (O'Grady *et al.*, 2011; Svenning y Sandel, 2013).

Las zonas ribereñas, cumplen funciones esenciales para el ecosistema lótico ya que actúan como donantes de materia orgánica la que será procesada dentro del mismo como sugiere el *River Continuum Concept* (Vannote *et al.*, 1980) y contribuirán al reciclado de nutrientes como sugiere el *Nutrient Spiraling Concept* (Webster y Patten, 1979; Minshall *et al.*, 1983). La estructura del dosel de ribera es dinámica e influye física, química, y biológicamente a los arroyos, mediante una serie de conexiones entre el ambiente terrestre y el acuático (Sweeney, 1992). La distribución vertical del follaje de la vegetación de ribera, su estructura horizontal (por ejemplo, el nivel de agregación) y la composición de especies determina el ambiente lumínico del arroyo (Montgomery y Chazdon, 2001). Las interacciones ribera-arroyo se comprenden mejor mediante el análisis de estas dinámicas que, consecuentemente, controlan la disponibilidad de luz en los arroyos (Stovall *et al.*, 2009). Asimismo, los regímenes de luz se alteran cuando aparecen las hojas de las especies deciduas en primavera y cuando las pierden en otoño (Hill y Dimick, 2002). Los doseles complejos a menudo modifican la disponibilidad de luz mediante la creación de rayos de luz (*sunfleck*) de bajo ángulo que logran pasar a través de los claros en el dosel. Además, la cobertura del dosel puede variar con el



tiempo en relación con el desarrollo del bosque, la historia de perturbación (por ejemplo, los incendios y los derrumbes) (Gjerløv y Richardson, 2010), y el clima (O'Grady *et al.*, 2011; Williamson *et al.*, 2014).

El perifiton de los ambientes lóticos será una comunidad especialmente afectada por los cambios que acontezcan en la vegetación ribereña. Los autótrofos y los organismos heterotróficos constituyen los principales recursos energéticos autóctonos que sostienen a los niveles tróficos superiores en las redes alimentarias lóticas (Wetzel, 2001). La relación carbono (C): nitrógeno (N) y C: fósforo (P) puede variar considerablemente dependiendo del tipo de materia orgánica en la matriz perifítica (Frost *et al.*, 2002b; Cross *et al.*, 2005; Frost *et al.*, 2005c), variaciones en la composición de los organismos del perifiton (Frost *et al.*, 2005c), o cambios en la fisiología de las algas (Frost *et al.*, 2002b; Frost *et al.*, 2005c; Hillebrand, 2005). Los estudios en arroyos experimentales revelaron que la luz y el fósforo pueden tener un efecto positivo en el crecimiento de algas en función de la disponibilidad de luz y el enriquecimiento de nutrientes (Hill y Fanta, 2008; Hill *et al.*, 2009). La variación en la disponibilidad de luz afecta el proceso de fotosíntesis de los productores primarios acuáticos modulando la tasa de fijación de carbono (C) que, a su vez, afecta la relación C: nutrientes de los productores primarios (Sturner *et al.*, 1997). En condiciones de poca luz, los productores primarios aumentan el contenido de pigmentos con el fin de maximizar la capacidad fotosintética y, por tanto, la fijación C (Hill *et al.*, 2009). Bajo altas intensidades de luz y bajos niveles de nutrientes inorgánicos (principalmente fósforo y/o nitrógeno), los productores primarios resultan en una biomasa con una acumulación desproporcionada de C con respecto a otros nutrientes y esto ocasiona que la limitación de nutrientes en los productores sea más acentuada (Frost *et al.*, 2002b; Sturner y Elser, 2002). Además, Xenopoulos *et al.* (2002) indicaron que la radiación UV también afecta a la relación C:N y C:P de los productores primarios. Por último, si la exposición a condiciones de alta radiación se prolonga en el tiempo la fijación de C se reduce debido a la fotoinhibición (Takahashi y Murata, 2008) y la relación C: nutrientes disminuye debido a la reducción en la fijación C (ver Capítulo III).

El límite altitudinal del bosque o límite arbóreo es particularmente sensible a los cambios en los regímenes de temperatura (Harsch *et al.*, 2009) ya que los cambios más pronunciados en las temperaturas ocurren a elevadas altitudes (Grigorév *et al.*, 2013). Los cambios en el establecimiento, en el crecimiento y en la supervivencia debido al cambio climático se describen, para límites arbóreos en los Alpes, en el Himalaya y en



las Montañas Rocosas (Alaska) y para diferentes especies de árboles (Körner, 2007; Körner, 2012; Randin *et al.*, 2013). Se podría predecir que el límite arbóreo se movería hacia arriba (Harsch *et al.*, 2009; Donato, 2013), sin embargo los cambios climáticos regionales determinarán la ubicación final de este límite (Macias-Fauria y Johnson, 2013; Paulsen y Körner, 2014). Asimismo a escala global, se presume que el cambio climático aumentará los doseles abiertos y los parches de bosque cerrado (Normand *et al.*, 2013; Svenning y Sandel, 2013; Zhu *et al.*, 2014). Los cambios en la altitud del límite arboreo y en la estructura del bosque debido al cambio climático, influirán en la disponibilidad de luz para la producción primaria de los arroyos. Por lo tanto, los ecosistemas más sensibles serán los arroyos de bajo orden, situados en el límite altitudinal del bosque. En estos ecosistemas se esperan cambios sustanciales en relación con la disponibilidad de luz asociados a la localización por encima o por debajo del límite arbóreo.

Los Andes norpatagónicos (alrededor de los 40°S) no exceden los 2500 m.s.n.m., mientras que el límite arbóreo está situado alrededor de los 1.600 m (Villalba *et al.*, 1997). El límite altitudinal de los árboles cerca de los 40° S en Chile y Argentina, está constituido por *Nothofagus pumilio*, esta línea se caracteriza por ser muy dinámica, cuya variación se relaciona íntimamente con los disturbios naturales y el clima (Daniels y Veblen, 2004). Diversos estudios previos han indicado que el cambio climático va a provocar alteraciones en la ubicación del límite arbóreo, ya que las semillas que se encuentran en el banco de semillas, su establecimiento y su crecimiento son altamente dependientes de la estacionalidad de la lluvia (Magnin *et al.*, 2014; Álvarez *et al.*, 2015), de la temperatura del verano (Massaccesi *et al.*, 2007; Magnin *et al.*, 2014) y de la radiación solar (Martínez Pastur *et al.*, 2011). Asimismo períodos de sequía y olas de calor aumentarían la mortalidad (Suarez y Kitzberger, 2008; Suarez y Kitzberger, 2010), produciendo una migración y/o retracción del bosque (Suarez y Kitzberger, 2010). Tal como se ya se mencionó las zonas riparias son componentes muy importantes para el ecosistema lótico, en particular la distribución del follaje vertical y la estructura de la vegetación podrían limitar la disponibilidad de luz. En este capítulo se analiza cómo la estructura del bosque modifica la disponibilidad de luz afectando a los parámetros fotosintéticos y la estequiometría del perifiton en arroyos de montaña.



Objetivo General

Analizar cómo la estructura del bosque, compuesto principalmente por el género *Nothofagus*, modifica la disponibilidad de luz afectando a los parámetros fotoquímicos de la fotosíntesis (en adelante fotosintéticos) y la estequiometría del perifiton en arroyos de montaña norpatagónicos.

Objetivos Específicos

- Analizar el efecto del dosel de ribera sobre los parámetros fotosintéticos y la estequiometría de los productores primarios de arroyos no glaciares de montaña.
- Analizar experimentalmente, utilizando mallas neutras que simulan las coberturas del dosel, las respuestas del perifiton.
- Vincular los resultados obtenidos con los cambios previstos por el IPCC (Magrin *et al.*, 2014) para los bosques de los Andes Norpatagónicos en escenarios futuros cercanos (2015-2039) y lejanos (2075-2099).

Hipótesis

Los parámetros fotosintéticos y la estequiometría del perifiton en arroyos de bajo orden se verán afectados por la estructura del bosque circundante que determinará la disponibilidad de luz.

Predicciones

Basandome en los resultados del capítulo anterior, mis predicciones son que: en los arroyos sin dosel arbóreo habrá una mayor disponibilidad lumínica y, en consecuencia, se producirá una mayor probabilidad de fotoinhibición, lo que disminuirá la relación C: nutrientes debido a una baja eficiencia fotosintética. Sin embargo, los autótrofos de arroyos con dosel arbóreo tendrán deficiencia lumínica y, por lo tanto, podrán fijar menos C, disminuyendo también la relación C: nutrientes. En consecuencia, predecimos que las situaciones con cubiertas intermedias en el dosel serán óptimas para los productores primarios lo que resultará en máximas eficiencias fotosintéticas y relaciones C: nutrientes más altas.



Métodos

Arroyos bajo estudio

Se realizaron muestreos en cuatro arroyos de montaña (Fresco, van Titter, Goye y López) situados en 41°S, 71°O en el Parque Nacional Nahuel Huapi (Patagonia, Argentina) (Figura IV.1 A). Estos arroyos reciben agua de precipitaciones y del deshielo de la nieve (precipitación anual total entre 1500 a 2500 mm), siendo las máximas

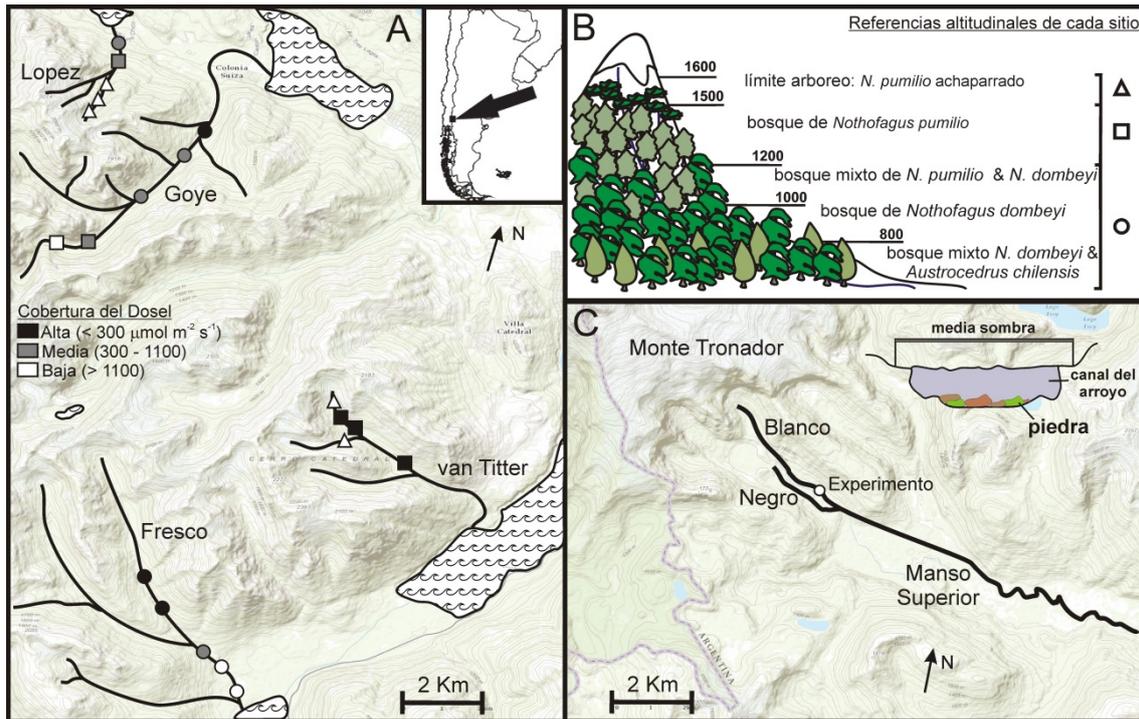


Figura IV.1: (A) Ubicación de los cuatro arroyos muestreados y las posiciones de cada sitio muestreado. Notar que cada punto muestreado tiene una referencia visual de la cobertura del dosel y disponibilidad de luz (blanco, gris y negro) y la composición altitudinal del bosque norpatagónico (Δ , *N. pumilio* bosque abierto; \square , *N. pumilio* bosque cerrado y \circ , bosque mixto). (B) Esquema del gradiente altitudinal del bosque norpatagónico. (C) Localización del experimento y su diseño. Para detalles ver Materiales y Métodos.

descargas durante el otoño-invierno austral (lluvia) y primavera (deshielo) mientras que los niveles más bajos son a finales del verano. El lecho de los arroyos estuvo dominado por canto rodado y guijarros. Las cabeceras de los arroyos se encuentran alrededor de los 2000 m.s.n.m. (Tabla 1) y pendiente abajo los arroyos poseen una vegetación riparia caracterizada por formas bajas y achaparradas (*krummholz*) del árbol deciduo *Nothofagus pumilio* (Hildebrand-Vogel *et al.*, 1990; Villalba *et al.*, 1997). Entre 1500 y 1200 m de altitud la forma arbórea de *N. pumilio* aumenta su importancia formando bosques puros y densos; mientras que entre los 1200-1000 m, se combina con el árbol perenne *Nothofagus dombeyi* (Veblen *et al.*, 1996). Debajo de los 1000 m *N. dombeyi*



domina el bosque templado y alrededor de los 800 m *N. dombeyi* forma un bosque mixto con el ciprés *Austrocedrus chilensis*. El área está libre de contaminación antropogénica y de deposición de aerosoles (Markert *et al.*, 1997; Mladenov *et al.*, 2011).

Durante el verano (febrero-marzo de 2014, dentro de un período de dos semanas) se muestrearon 20 sitios (cinco en cada arroyo, Figura IV.1 A). Estos sitios representaron una amplia gama de condiciones lumínicas ribereñas (desde un dosel abierto a uno cerrado) a lo largo de los arroyos estudiados (ancho del arroyo < 10 m, profundidad media 25 cm). Las estaciones de muestreo fueron elegidas en base a fotografías aéreas (tomadas de Google Earth®) y observaciones visuales preliminares con el fin de representar diferentes condiciones de dosel. Las especies del dosel dominantes en estos sitios incluyen las tres especies antes mencionadas: *N. pumilio*, *N. dombeyi*, y *A. chilensis* (Figura IV.1 B).

Procedimientos de Muestreo

En cada sitio de muestreo se midió la turbidez utilizando un medidor portátil de turbidez (Lutron TU-2016, Taipei, Taiwán) y la temperatura, conductividad y oxígeno disuelto con un oxímetro-conductímetro (YSI 85, Ohio, EE.UU.). Cada determinación se llevó a cabo tres veces por sitio. Se recogió 1 L de agua de cada sitio en recipientes de plástico lavados previamente con ácido, que luego fueron transportados, térmicamente aislados, al laboratorio con el fin de medir las concentraciones de nutrientes. Además, se seleccionaron cuatro piedras al azar en cada sitio, en una sección del canal principal de por lo menos 6 m de ancho y 15 cm de profundidad. En la superficie de cada piedra, se determinaron *in situ* los parámetros fotosintéticos del perifiton con un WATER-PAM equipado con una unidad de fibra óptica Water-EDF (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemania). Después de realizadas las mediciones, cada piedra se almacenó individualmente en una bolsa de plástico y de inmediato fueron llevadas al laboratorio en condiciones de oscuridad en recipientes con aislamiento térmico. Todas las estaciones de muestreo de cada arroyo fueron relevadas el mismo día y alrededor del cenit.



Mediciones de las condiciones lumínicas

Para medir las condiciones ambientales de luz sobre los arroyos, se utilizaron fotografías digitales hemisféricas del dosel. Con las fotografías hemisféricas del dosel se estimó la radiación directa bajo dosel (*direct site factor*, DSF) (Anderson, 1964) en cada sitio, que es una aproximación de las condiciones de luz a mediano plazo (“historia de luz”). Asimismo este parámetro se asocia con la apertura del dosel (los valores oscilan entre 0 -cerrado- y 100 -abierto-). Las fotografías hemisféricas fueron tomadas sobre el centro del arroyo usando una cámara digital Coolpix 995, Nikon, con un objetivo ojo de pez que proporciona una vista de 180 grados (FCE8, Nikon). La cámara se montó en un trípode fijado sobre la superficie del agua lo más bajo posible (< 1 m). Las fotografías tomadas durante el muestreo fueron examinadas usando el software WinSCANOPY® (Regent Instruments Inc., Canadá) para calcular las diferentes condiciones de luz por debajo del dosel. Se realizaron las medidas de luz durante el verano con el fin de reducir el efecto caducifolio de *N. pumilio* y los diferentes tamaños de hojas. Las medidas de luz (cinco repeticiones de toma de fotos) fueron tomadas dentro de dos horas alrededor del mediodía.

También se midió directamente la disponibilidad de luz (RFA, 400-700 nm) en el lecho del arroyo, a unos ~15 cm de profundidad (lecho del arroyo), con un radiómetro portátil Armour SL-125 (Biospherical Instruments Inc., San Diego, CA, EE.UU.). El coeficiente de atenuación lumínica (K_d) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$K_d = \frac{\ln(E_2/E_1)}{\Delta z},$$

donde E_2/E_1 es el cociente de irradiancias entre dos profundidades $z_2 = 0.15$ m y $z_1 = 0$; esto es la transmitancia de la irradiancia en un intervalo de profundidad $\Delta z = z_1 - z_2$. El K_d fue estimado a partir de las mediciones directas de luz (Tabla 1). Las mediciones de luz fueron expresadas como la radiación fotosintéticamente activa (RFA) en el lecho del arroyo en $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (de ahora en adelante luz bajo el agua).

Parámetros de fluorescencia fotosintética

En cada uno de los arroyos, se midieron los parámetros fotoquímicos de la fotosíntesis (fotosintéticos, descritos en el Capítulo III) *in situ* sobre la superficie de cada piedra (4), mientras se encontraban bajo el agua; con un fluorómetro WATER-PAM equipado con una unidad de fibra óptica WATER-EDF. Sobre cada piedra se realizaron las siguientes mediciones: (a) con la luz actínica apagada se estimó el estado actual de los fotosistemas (F'_0 y F'_m), y (b) se midió la respuesta fotosintética a un pulso



de RFA de $1004 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (5 mediciones). Este conjunto de mediciones permitió analizar el estado fotosintético del perifiton bajo condiciones normales de luz (sin previa aclimatación a la oscuridad), es decir según la historia lumínica que poseía de acuerdo a la cobertura del dosel.

Procedimientos de Laboratorio

Un volumen de 500 ml de agua de arroyo de cada sitio, se filtró a través de filtros GF/F (Whatman®, Maidstone, Reino Unido) de $\sim 0,7 \mu\text{m}$ de poro previamente muflados. El contenido de fósforo total disuelto (PTD), nitrógeno total disuelto (NTD) y el carbono orgánico disuelto (COD) se determinaron a partir del agua filtrada previamente. El COD y NTD se midieron con un analizador de carbono-nitrógeno (Shimadzu TOC VCSH, con un modulo TN-M1, Kyoto, Japón). Las muestras fueron digeridas para las mediciones de PTD con persulfato de potasio en 125°C a 1,5 atmosferas durante 1 h, y las concentraciones se analizaron utilizando el método de molibdeno ascorbato reducido (Eaton *et al.*, 2005). Los sólidos totales en suspensión (STS) se cuantificaron al filtrar 500 mL de agua del arroyo a través de filtros GF/F previamente pesados, los cuales posteriormente se secaron durante al menos 48 horas a 60°C y luego se volvieron a pesar. En el laboratorio, el perifiton se obtuvo al raspar individualmente las piedras con un cepillo y luego de enjuagar cuidadosamente con agua destilada. El volumen final fue llevado a un volumen constante de 100 mL y se expresó en relación a las $2/3$ partes de la superficie total de la piedra (cm^2) (Biggs y Close, 1989), que fue estimada a partir de las longitudes de los tres principales ejes (Graham *et al.*, 1987). Se realizaron los mismos procedimientos para la obtención de concentraciones de nutrientes del perifiton que en el Capítulo III. Las concentraciones de C, P y Cl-*a* del perifiton son informadas como mg m^{-2} ; cada parámetro se estimó 4 veces (4 piedras por sitio).

Experimento en Campo

El experimento de campo fue diseñado con el fin de medir las respuestas del perifiton a las condiciones de luz, manipuladas en un arroyo libre de dosel utilizando mallas neutras (media sombra). El experimento fue llevado a cabo en el arroyo Blanco, en el monte Tronador (Figura IV.1 C, Tabla 1) y tuvo una duración de 107 días (diciembre 2013 a abril 2014). Se llevaron a cabo dos tratamientos: sin malla



(irradiancia media durante el experimento de $1729 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y máxima de hasta $2414 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ al mediodía en días soleados) y con malla (con una media de irradiancia de $335 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y un máximo de $497 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ al mediodía). El tratamiento con poca luz se logró con una malla neutra cubriendo todo el ancho arroyo y de 15 m de longitud, y se colocó a 15 cm por encima de la superficie de la corriente y se fijó con clavijas de metal a 1 m de distancia desde el margen del arroyo (Figura IV.1 C). Este experimento se llevó a cabo durante el período de bajo caudal (verano) y no se registraron cambios hidrológicos durante el experimento (HOBO data).

Las condiciones de luz durante cada período del experimento (entre muestreos) fueron calculadas en base al porcentaje de nubes registrado por la página web <http://www.windguru.cz/>. Se realizó una calibración entre el porcentaje de nubes reportado por la página web y las mediciones directas de luz realizadas *in situ* con el radiómetro portátil Armour SL-125, durante cada muestreo. Dicha página utiliza un modelo de mesoescala regional MM5/WRF (abreviatura de quinta generación de Penn State / NCAR modelo de mesoescala) de 12 km de resolución, para la creación de las previsiones meteorológicas y el clima. Dicho modelo también es el utilizado para realizar las predicciones climáticas del IPCC para Sudamérica y Argentina por Barros *et al.* (2013); Magrin *et al.* (2014).

Durante el experimento se midieron PTD, NTD, COD, STS, conductividad, turbidez, y oxígeno disuelto, cada vez que se realizaban los muestreos de extracción de piedras (Tabla 1). Asimismo durante el experimento, las temperaturas y los niveles de agua del arroyo Blanco fueron registrados con un registrador automático de datos cada 4 horas (U20 HOBO del; Onset, Bourne, MA, EE.UU.). En cinco ocasiones de muestreo se seleccionaron al azar cuatro piedras por tratamiento (luz total y poca luz) y se estimaron los parámetros fotosintéticos *in situ* (qP, Y, NPQ, Y/qP y ETRr) para cada piedra (al igual que lo realizado en los arroyos) con un WATER-PAM y el software WinControl-3.23. Luego se tomó cada piedra, e individualmente fueron colocadas en un recipiente de plástico e inmediatamente transportados al laboratorio en condiciones de oscuridad en recipientes con aislamiento térmico. En el laboratorio, se rasparon las piedras y se procedió cómo se ha explicado previamente, estimando los mismos parámetros.



Análisis estadístico y cálculos

Se compararon los dos métodos de medición de la luz (es decir, a través del radiómetro y utilizando la fotografía hemisférica), con el fin de relacionarlos con la apertura del dosel y la disponibilidad de luz bajo el agua (a 15 cm de profundidad). Se realizó un ANOVA de dos vías para analizar la disponibilidad de luz entre los sitios ($N = 5$) y los arroyos ($N = 4$). Se realizó un análisis de agrupamiento (UPGMA; método de aglomeración jerárquica en base a promedios no ponderados), con el fin de agrupar las condiciones de luz similares de los distintos sitios. En base a estos resultados, se agrupó en tres niveles de disponibilidad de luz, que se corresponde con la cobertura del dosel, y se clasificó cada punto de muestreo en uno de estos niveles (Figura IV.1 A). Por otro lado se realizó un ANOVA anidado con el fin de comparar las características limnológicas STS, COD, PTD, NTD, conductividad, turbidez, temperatura y oxígeno disuelto) de los arroyos (Van Titter, Fresco, Goye y López), donde cada uno de los puntos de muestreo se encontraba anidado a un arroyo. Se realizaron pruebas de Tukey *a posteriori* utilizando R (Team R, 2015). Cada punto de muestreo fue de una media de cuatro réplicas (piedras).

Se utilizaron modelos mixtos lineales generalizados (GLMM) asumiendo una distribución de error normal y se tomó la función logaritmo como función de enlace usando R (Team R, 2015), para relacionar el perifiton con las distintas variables ambientales obtenidas: el curso geográfico del arroyo, la altura de cada sitio, la turbidez, COD, PTD, NTD, temperatura, conductividad, oxígeno disuelto y la radiación en el lecho del arroyo. Se consideraron sólo las variables que no se encontraban altamente correlacionados entre sí (correlaciones de Pearson entre las variables ambientales $< 0,60$). Se tomaron en cuenta todas las diferentes combinaciones de los siete predictores, y el arroyo fue analizado como un factor aleatorio con cuatro niveles (para hacer frente a la falta de independencia de los datos dentro de cada arroyo). Seleccionamos el modelo que mejor describió la biomasa de los productores primarios (concentración de Cl-*a* del perifiton), aplicando el criterio de información de Akaike (AIC). Para cada modelo, se calculó el valor corregido de AIC (AIC_C), que está recomendado para muestras pequeñas (Burnham y Anderson, 2002). Todos los modelos candidatos se clasificaron de acuerdo a su valor de AIC_C , y se tomó como el mejor modelo aquel que tuviese el valor más pequeño de AIC_C (Burnham y Anderson, 2002). A continuación, se calculó el ΔAIC_C , que es la diferencia de cada modelo a partir del modelo de mejor ajuste dentro del conjunto del modelo. Se utilizó el criterio de $\Delta AIC < 2$ (Grueber *et al.*,



2011) para determinar el conjunto de modelos más representativo. Después de ser determinadas las variables que son significativas para los productores primarios del perifiton, se analizó la relación entre las variables del modelo (mejor AIC_C) y las variables respuesta del perifiton (es decir, el contenido de C del perifiton, concentración de $Cl-a$, la relación C: $Cl-a$, la relación C:P del perifiton y los parámetros fotosintéticos). Se exploraron las relaciones usando correlaciones de Pearson, cuando se encontraron relaciones significativas, se llevó a cabo una regresión lineal y/o ajuste de curva. En todos los casos la normalidad y la homocedasticidad fueron verificados previamente.

Escenarios futuros bajo el Cambio Climático

Los resultados obtenidos fueron vinculados con los escenarios futuros (cercano: 2015-2039 y lejano: 2075-2099) previstos por el Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (IPCC). Se utilizaron los cambios esperados en las precipitaciones y la temperatura para predecir cualitativamente las posibles respuestas de los bosques húmedos de la Patagonia Norte (utilizando referencias sobre la dinámica del bosque norpatagónico), y cómo esta modificación puede interactuar con los parámetros del perifiton (contenido de C del perifiton y parámetros de la fotosíntesis).

Para esto se eligió el escenario de emisiones RCP 8.5. Cada trayectoria de concentración representativa (RCP) define una conducta de emisiones específicas y un consecuente forzamiento radiativo. Se eligió el escenario RCP 8.5, porque se considera que es el escenario más probable (anteriormente conocido como el escenario A2, Cuarto Informe del IPCC). Varias publicaciones recientes han confirmado que las actuales emisiones se encuentran dentro del extremo superior del escenario RCP 8.5 (Peters *et al.*, 2013).

Los cambios en la temperatura y en la cantidad y la estacionalidad de la precipitación en el norte de los Andes Patagónicos en el futuro cercano (2015-2039) y en el futuro lejano (2075-2099) fueron compilados a partir del Quinto y Cuarto Informe de Evaluación del IPCC (Magrin *et al.*, 2014) y la Tercera Comunicación Nacional de Argentina en el marco de la Convención de Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC, Barros *et al.* (2013)). El informe argentino (Barros *et al.*, 2013) utilizó un modelo regional anidado a un modelo global, lo que mejora la representación del clima (temperatura, presión a nivel del mar y precipitación) en el sur de Sudamérica para la creación de las previsiones meteorológicas y las proyecciones climáticas.



Resultados

Los arroyos

Los diferentes sitios a lo largo de los cuatro arroyos muestreados difirieron en la cobertura arbórea, es decir en la cobertura del dosel (DSF que fue desde 10 a 98) y la disponibilidad de luz bajo el agua (desde 57 a 2589 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Figura IV.1 A). Por lo tanto, la disponibilidad de luz varió significativamente entre los sitios (ANOVA de dos vías, $F_{4,12} = 10,8$; $p < 0,001$). El análisis de agrupación para los sitios de los arroyos, mostró tres grupos de acuerdo a las condiciones de luz bajo el agua y la cobertura de dosel: baja ($< 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, dosel cerrado), intermedia ($300 - 1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la alta disponibilidad de luz ($> 1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, dosel abierto). Además, se comparó la medición directa de la luz bajo el agua (15 cm de profundidad, previa transformación por logaritmo) con la medición de luz debajo del dosel (DSF) y se encontró una correlación altamente significativa entre ambos parámetros (regresión lineal: $\% \text{DSF} = 24.171 * \text{Irradiancia}$; $r^2 = 0,87$; $n = 20$; $F_{1,19} = 163,5$; $p < 0,001$). Por lo tanto los grupos de disponibilidad lumínica también representaron diferentes coberturas de dosel. En consecuencia, la luz del sotobosque es el resultado del nivel de cobertura del dosel y además no se encontraron diferencias en la disponibilidad de luz bajo *N. pumilio* y *N. dombeyi*. La concentración de sólidos totales en suspensión (STS) y de carbono orgánico disuelto (COD) fueron bajos (Tabla IV.1) y por lo tanto no afectaron la disponibilidad de luz.

Las otras variables limnológicas no difirieron entre los arroyos de muestreo y los sitios. Todos los arroyos exhibieron valores bajos de turbidez (0 - 1,82 NTU) y de conductividad (11 - 42 $\mu\text{S cm}^{-1}$) (Tabla IV.1), aunque el arroyo Fresco presentó los valores de turbidez significativamente más altos (ANOVA anidado, $F_{3,10} = 9,3$; $p = 0,003$; prueba de Tukey *a posteriori*, entre todos los pares $p < 0,05$) y de conductividad (ANOVA anidado, $F_{3,10} = 53,6$; $p < 0,001$; prueba de Tukey *a posteriori*, entre todos los pares $p < 0,001$). Asimismo la cobertura de dosel no afectó la turbidez, ni la conductividad (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 2,8$; $p = 0,11$ and $F_{2,10} = 2,2$; $p = 0,16$ respectivamente). Todos los arroyos presentaron valores bajos de COD (Tabla IV.1), sin diferencias entre los arroyos (ANOVA anidado, $F_{3,10} = 0,4$; $p = 0,67$) y entre los distintos niveles de dosel (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 0,41$; $p = 0,73$). La concentración de fósforo total disuelto (PTD) fue baja ($< 8 \mu\text{g L}^{-1}$) en todos los arroyos (Tabla IV.1) y asimismo, el dosel no afectó la concentración de P (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 0,6$; $p = 0,55$). La concentración total de nitrógeno disuelto (NTD) fue más alta en los arroyos



van Titter y Goye (Tabla 1, ANOVA anidado, $F_{3,10} = 30,3$; $p < 0,001$), pero el nivel de dosel no afectó el contenido de NTD (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 0,7$; $p = 0,58$). La relación NTD: PTD en los arroyos varió entre 28 y 85. La temperatura del agua fue baja en todos los arroyos, oscilando entre 8 y 13°C y hubo diferencias significativas entre ellos (ANOVA anidado, $F_{3,19} = 8,5$; $p < 0,004$; Tabla IV.1). Se observó que la extinción lumínica fue baja para todos los casos y el k_d más alto fue para el arroyo van Titter y el arroyo Blanco durante la realización del experimento.

Tabla IV.1: Parámetros fisicoquímicos de los arroyos Van Titter, Fresco, Goye y López (cada valor corresponde a la media de 5 sitios de muestreo bajo diferentes cobertura de dosel) y del experimento en el arroyo Blanco (media \pm SD). Las comparaciones entre los arroyos son en base al ANOVA anidado (p-valor) y a la prueba de Tukey realizada *a posteriori*. Las diferencias significativas en la prueba de Tukey están bajo $p < 0,05$. STS = sólidos totales en suspensión, COD = carbono orgánico disuelto, NTD = nitrógeno total disuelto, PTD = fósforo total disuelto, K_d = coeficiente de atenuación lumínico.

	Blanco (experimento)	van Titter	Goye	Lopez	Fresco	ANOVA <i>p</i> -valor
Temperatura (°C)	8,9 \pm 1,8	13,0 \pm 2,1 ^a	10,8 \pm 0,6 ^b	8,4 \pm 0,9 ^c	9,0 \pm 0,2 ^c	$p = 0,004$
Turbidez (NTU)	4,1 \pm 1,0	0,6 \pm 0,6 ^b	0,4 \pm 0,2 ^b	0,7 \pm 0,6 ^b	1,6 \pm 0,2 ^a	$p = 0,01$
STS (mg L ⁻¹)	4,9 \pm 2,3	0,5 \pm 0,1 ^{ns}	0,2 \pm 0,1 ^{ns}	1,3 \pm 1,4 ^{ns}	0,5 \pm 0,3 ^{ns}	$p = 0,11$
COD (g L ⁻¹)	0,4 \pm 0,2	0,8 \pm 0,4 ^{ns}	0,7 \pm 0,1 ^{ns}	0,9 \pm 0,5 ^{ns}	0,7 \pm 0,2 ^{ns}	$p = 0,67$
PTD (µg L ⁻¹)	9,6 \pm 4,8	7,8 \pm 1,0 ^a	2,2 \pm 0,9 ^b	2,4 \pm 0,7 ^b	3,3 \pm 0,9 ^b	$p < 0,001$
NTD (µg L ⁻¹)	51,3 \pm 14,9	122,6 \pm 36,6 ^a	84,1 \pm 25,2 ^a	55,6 \pm 16,7 ^b	42,2 \pm 12,7 ^b	$p < 0,001$
Conductividad (µS cm ⁻¹)	19,5 \pm 1,8	11,4 \pm 1,9 ^b	19,5 \pm 7,0 ^b	13,9 \pm 9,5 ^b	42,9 \pm 0,2 ^a	$p < 0,001$
Oxígeno Disuelto (mg L ⁻¹)	9,7 \pm 1,0	11,1 \pm 1,1 ^{ns}	9,8 \pm 1,5 ^{ns}	9,7 \pm 0,7 ^{ns}	10,8 \pm 3,3 ^{ns}	$p = 0,41$
K_d (m ⁻¹)	0,7 \pm 0,3	0,7 \pm 0,4	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,2	

Biomasa y relación elemental del Perifiton

La concentración de Cl-*a* en el perifiton fue más alta (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 35,4$; $p < 0,001$) en condiciones de alta cobertura de dosel (baja disponibilidad lumínica, 2,9 mg Cl-*a* m⁻²) que bajo una cobertura arbórea intermedia (1,6 mg Cl-*a* m⁻²) y que en sitios con doseles abiertos (alta disponibilidad de luz, 0,5 mg Cl-*a* m⁻²). Asimismo no se encontraron diferencias entre los arroyos (ANOVA anidado, $F_{3,10} = 1,13$; $p = 0,38$). Con el fin de dilucidar el principal factor/s que controla la biomasa del perifiton (como Cl-



a) se desarrollaron varios modelos ambientales. Los modelos descritos en la Tabla IV.2 fueron obtenidos a través de un modelo mixto, donde los arroyos fueron incluidos como una variable aleatoria. Se obtuvieron 127 modelos ambientales, aunque sólo 3 fueron apoyados por nuestros datos ($\Delta AIC < 2$, Tabla IV.2), explicando la variación de la concentración de Cl-*a*. Entre los diferentes factores analizados, el modelo con la variable luz bajo el agua (en el lecho del arroyo) fue el que tuvo la probabilidad más alta (Tabla IV.2), y con una relación entre Cl-*a* y luz (en el lecho del arroyo) altamente significativa (Figura IV.2, ajuste curva sigmoidea $r^2 = 0,80$; g.l. = 28, $p < 0,0001$).

Tabla IV.2: Los mejores modelos ($\Delta AIC < 2$) para predecir la biomasa (clorofila *a*) del perifiton en cuatro arroyos de montaña (van Titter, Fresco, Goye y López),

Variables en los modelos	r^2	AICc	ΔAIC	w_i	k
Luz bajo el agua (LA)	0,62	38,13	0	0,383	1
LA + Turbidez	0,649	39,134	1,004	0,141	3
LA + Temperatura + Turbidez	0,714	39,918	1,788	0,092	3

Los términos de error también se incluyeron en todos los modelos. AIC, Criterio de Información de Akaike. k indica el número de parámetros. $\Delta AICc$ es la diferencia entre el valor AIC_C y el valor más bajo AIC_C . w_i es la probabilidad relativa de que el modelo es el mejor modelo de aproximación.

Las diferencias en C en el perifiton se explicaron únicamente por diferencias en la cobertura (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 18,9$; $p = 0,0004$), debido a las diferencias en la cobertura del dosel y, por lo tanto, en la disponibilidad de luz. Los sitios con alta y baja disponibilidad de luz presentaron un perifiton con 1,4 y 2,5 veces menos contenido de C, que la cobertura del dosel intermedio (condiciones intermedias de disponibilidad de luz). Por lo tanto, el C del perifiton mostró una curva de respuesta acampanada al nivel del dosel (Figura IV.3), con un máximo entre ~ 250 y $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La relación entre el contenido de C del perifiton y la Cl-*a* de los productores primarios mostró que la relación C:Cl-*a* se incrementó (Figura IV.4) a medida que disminuyó la cubierta de dosel (alto DSF, alta disponibilidad de luz). Se encontraron diferencias entre los sitios (ANOVA anidado, $F_{2,10} = 10,2$; $p = 0,004$), donde los sitios con mayor disponibilidad de luz tuvieron una relación C:Cl-*a* mayor que los sitios con intermedia y baja disponibilidad de luz (prueba de Tukey *a posteriori*, entre todos los pares $p < 0,01$). Estos sitios a su vez no tuvieron diferencias en la relación C:Cl-*a* (*a posteriori* Tukey, $p = 0,97$). Asimismo cada arroyo mostró una relación particular (ANOVA anidado, $F_{3,10}$



= 4,4; $p = 0,03$); esta relación difirió entre arroyos (por ejemplo, López varió su relación desde 40 a 184,5 mientras que en el Goye fue más estrecho: de 21,5 a 40,5) (observar las diferentes líneas en la Figura IV.4). En los arroyos Goye y Fresco se evidenció una relación C:Cl-a ($p = 0.004$ y $p = 0.003$, respectivamente).

Debido a las diferencias en el contenido de C y la falta de diferencias en el contenido de P (ANOVA, $F_{3,10}$, $p = 0,21$), la relación C: P del perifiton también mostró una curva acampanada en respuesta al nivel del dosel, con un máximo (Figura IV.5) entre 250 y 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y que fue consistente con lo observado en la relación entre luz y el contenido de C del perifiton (Figura IV.3).

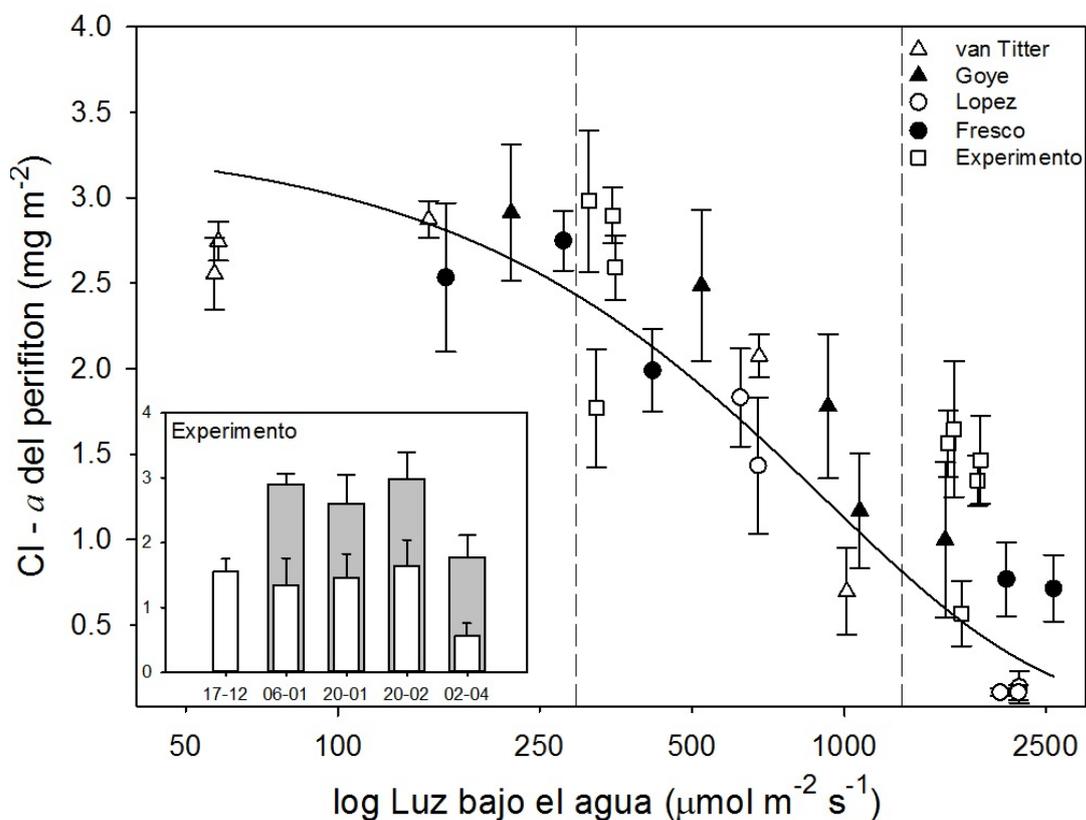


Figura IV.2: Relación entre la concentración de Cl-a del perifiton y la luz en el lecho del arroyo, (curva de ajuste $r^2 = 0,80$; g.l. = 28, $p < 0,001$). Los datos se presentan como promedio (4 réplicas) y su error estándar. Gráfico anidado: resultados experimentales por fecha de muestreo (día-mes): poca luz (gris) y tratamiento con luz completa (blanco). Las líneas verticales muestran los 3 grupos de luz / dosel. Todas las diferencias de tratamiento fueron significativas a $p < 0,001$.

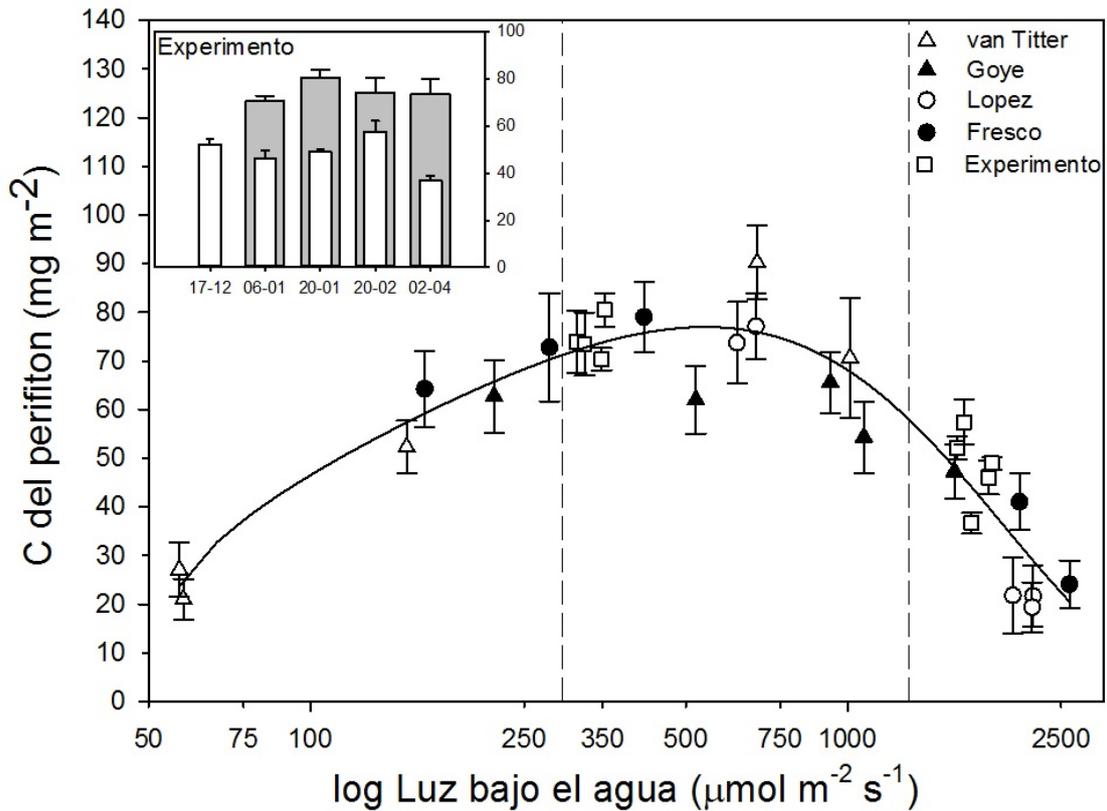


Figura IV.3: La relación entre la concentración de C del perifiton y la luz en el lecho del arroyo mostró una función en forma de campana ($r^2 = 0,88$; g.l. = 28, $p < 0,0001$). Los datos se presentan promedio y su error estándar. Las líneas verticales muestran los 3 grupos de luz / dosel. Gráfico anidado: resultados experimentales por fecha de muestreo (día-mes): poca luz (gris) y tratamiento con luz completa (blanco). Todas las diferencias de tratamiento fueron significativas a $p < 0,001$.

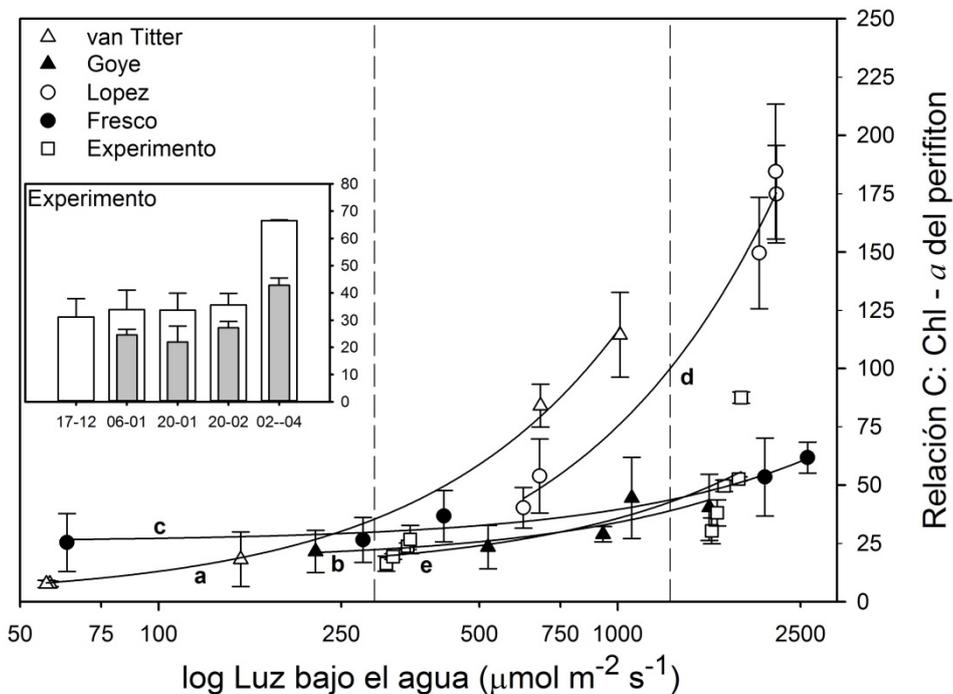


Figura IV.4: Relación entre la relación C: Chl-a del perifiton y la luz en el lecho del arroyo. Cada arroyo muestra una respuesta propia (regresiones lineales): a. López ($r^2 = 0,99$; d.f. = 4; $p = 0,001$), b. Van Titter ($r^2 = 0,99$; d.f. = 4, $p < 0,0001$), c. Fresco ($r^2 = 0,96$; g.l. = 4; $p = 0,003$), d. Goye ($r^2 = 0,72$; g.l. = 4; $p = 0,004$) y e. Experimento ($r^2 = 0,59$; g.l. = 9, $p < 0,0001$). Idem referencias Figura IV.3. Todas las diferencias de tratamiento fueron significativas a $p < 0,001$.

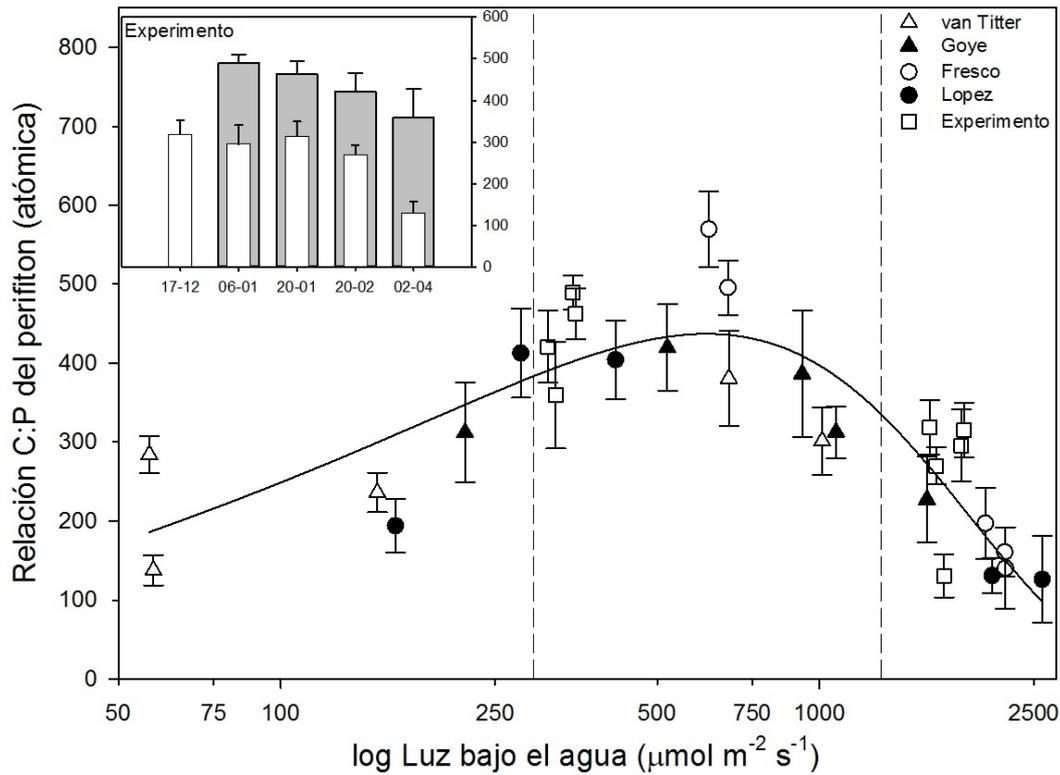


Figura IV.5: La relación entre el C: P (atómico) del perifiton y la luz en el lecho del arroyo mostraron una función de ajuste en forma de campana ($r^2 = 0,86$; g.l. = 28, $p < 0,0001$). Los datos se presentan como promedio y su error estándar. Las líneas verticales muestran los 3 grupos de luz / dosel. Gráfico anidado: resultados experimentales por fecha de muestreo (día-mes): poca luz (gris) y tratamiento con luz completa (blanco). Todas las diferencias de tratamiento fueron significativas a $p < 0,001$.

Parámetros Fotosintéticos

Se observó que el rendimiento de la fotosíntesis (Y) fue más alto en el dosel intermedio, con un máximo entre ~ 250 y $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura IV.6 A) y consistentemente esto también se vio reflejado en la velocidad de transferencia de electrones (ETR_r), donde el máximo se obtuvo en este mismo intervalo de cobertura de dosel (Figura IV.6 B). Sin embargo, los productores primarios que están expuestos crónicamente a altas condiciones de luz (baja cobertura de dosel, alto DSF) presentaron valores bajos de tasa de transferencia de electrones. Esta disminución en la velocidad de transferencia de electrones y, por lo tanto, en la fotosíntesis fue también observada en condiciones de baja disponibilidad de luz (alta cobertura de dosel, bajo DSF).

La cantidad de luz afecta directamente el mecanismo fotosintético. Esto fue evidente cuando se analizó la eficiencia fotosintética por centro reactivo abierto del fotosistema II (Y/qP , Figura IV.6 C). Las eficiencias más altas se registraron en sitios con condiciones de dosel intermedio, con una disponibilidad de luz de $\sim 250 - 750 \mu\text{mol}$



$\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A pesar que los productores primarios en ambos extremos de la disponibilidad de luz (alta y baja) mostraron respuestas similares (Figura IV.6), la maquinaria fotosintética experimentó diferencias en el “estado de salud” del mismo. En condiciones de alta disponibilidad de luz el fotosistema II (FS II) se ve marcadamente afectado por la exposición crónica a la luz excesiva. Durante las mediciones con el PAM, el pulso de luz actínica cierra transitoriamente todos los centros reactivos del FSII y proporciona un valor de fluorescencia máxima en el estado de luz al que esté adaptado (en el cual haya crecido). Se encontró que la proporción de centros reactivos cerrados ($1-qP$) aumenta cuando los productores primarios se adaptan a ambientes de poca luz (Figura IV.6 D). Con lo cual estos organismos disipan el exceso de luz en forma de calor a través del NPQ (regresión lineal negativa entre NPQ y luz disponible en el lecho del arroyo, pendiente = $-0,09$; $r^2 = 0,67$; $F_{1,28} = 54,2$; $p < 0,001$). Esto significa que la excitación con un exceso de luz cierra los centros reactivos del FSII, y disipa dicha energía en forma de calor. Por el contrario, los productores primarios adaptados a mayores disponibilidades de luz tendrán baja respuesta fotosintética a los pulsos actínicos en todos los parámetros fotosintéticos (ETR_r , Y/qP , $1-qP$) (Figura IV.6).

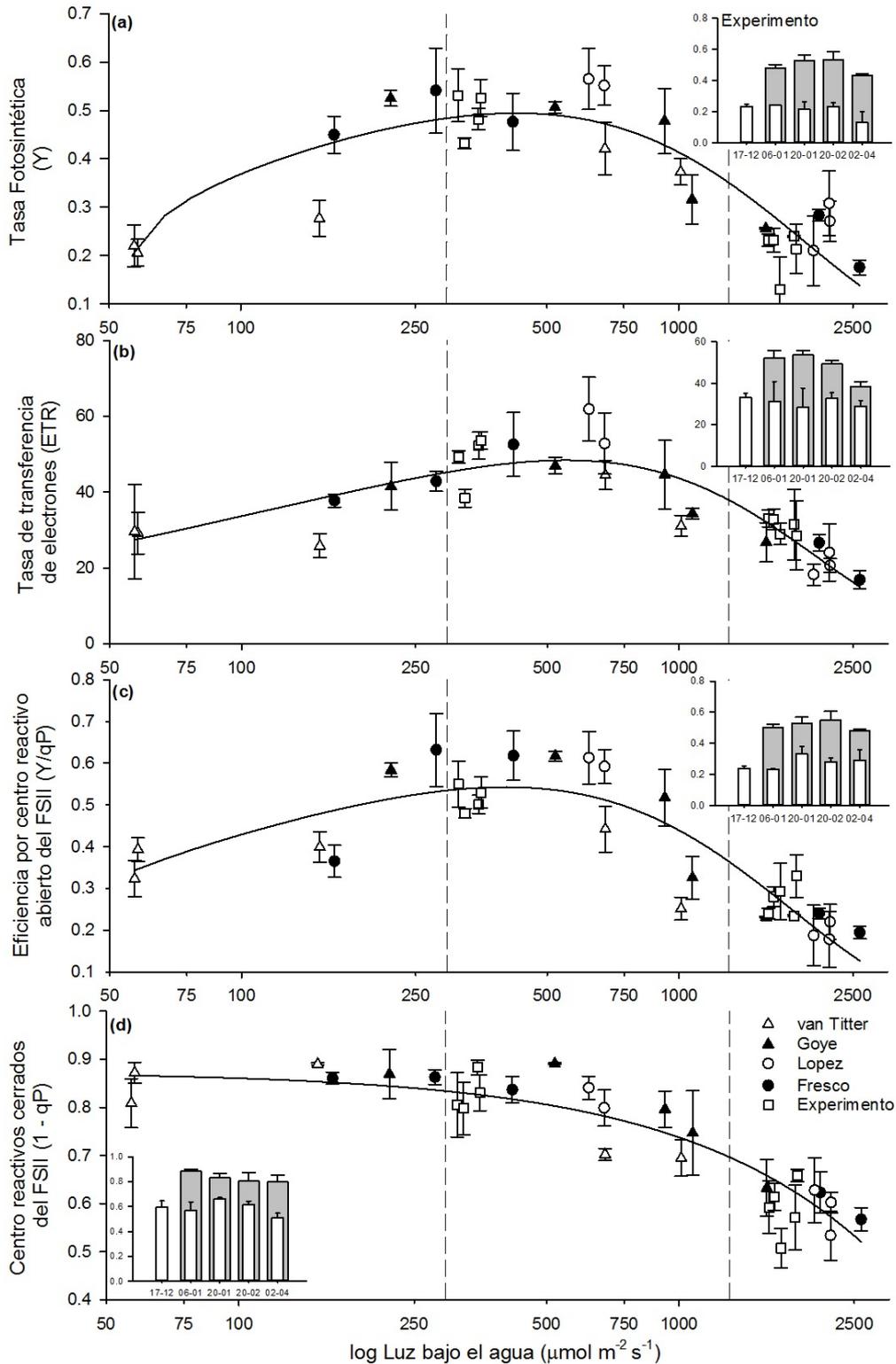


Figura IV.6: Respuestas de los parámetros fotosintéticos a la luz bajo el dosel. (A) Rendimiento fotosintético (función de ajuste gaussiano, $r^2 = 0,76$; g.l. = 29, $p < 0,0001$), (B) Tasa relativa de transferencia de electrones (ETRr, función de ajuste gaussiano, $r^2 = 0,77$; g.l. = 28, $p < 0,0001$), (C) Eficiencia fotosintética por centro reactivo del FSII (Y/qP, función de ajuste gaussiano, $r^2 = 0,78$; g.l. = 28, $p < 0,0001$). (D) Centros reactivos cerrados del FSII (1-qP, función de ajuste cuadrático, $r^2 = 0,79$; g.l. = 28, $p < 0,0001$). Referencias ídem Figura IV.5. Todas las diferencias de tratamiento fueron significativas a $p < 0,05$.



Resultados del Experimento en Campo

Durante los 107 días de experimentación, las temperaturas variaron en un rango entre 6,9 y 12,3°C con un promedio de $9,5 \pm 1,7^\circ\text{C}$ (registrador de datos HOBO) y la concentración de nutrientes permanecieron casi invariables (Tabla IV.1).

Bajo el tratamiento con poca luz, las condiciones de luz fueron similares (media $335 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) al límite inferior del rango de disponibilidad de luz intermedia medida en los arroyos. Asimismo el tratamiento sin media sombra (experimento alta disponibilidad de luz media $1729 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se asemeja a los sitios con dosel abierto. Entre los tratamientos de baja y alta disponibilidad de luz, se encontraron diferencias significativas en la concentración de Cl-a ($2,68$ y $1,36 \text{ mg m}^{-2}$, respectivamente; ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 133,2$; $p < 0,001$), en el contenido de C (ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 31,5$; $p < 0,001$), y en la relación C: P (ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 26,3$; $p < 0,001$). Bajo el tratamiento de baja disponibilidad de luz (media sombra), se observó una tasa relativa de transferencia de electrones mayor (ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 7,4$; $p = 0,012$; ETRr = 48,38). En consecuencia, también se observó una tasa fotosintética superior en el tratamiento sombreado (ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 10,2$; $p = 0,004$; $Y = 0,5$). El perifiton bajo el tratamiento con poca luz respondió al SAL con una mayor proporción de centros reactivos cerrados (ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 6,8$; $p = 0,015$; $1-qP = 0,80$) y una mayor disipación a través del calor (ANOVA de dos vías, $F_{1,24} = 9,5$, $p = 0,005$, NPQ = 0,26) que el perifiton en el tratamiento sin sombra y con alta disponibilidad de luz ($1-qP = 0,60$; NPQ = 0,15). Además, los datos experimentales obtenidos tuvieron un buen ajuste con las tendencias observadas en los datos de campo. Así los datos obtenidos experimentalmente se incluyeron en las figuras relativas a la disponibilidad de luz y a los parámetros del perifiton (ver los cuadrados blancos en las Figuras IV.2-6 y los gráficos anidados muestran las diferencias entre tratamientos durante los muestreos). La similitud entre el experimento de sombreado y la situación de luz intermedia sugiere que los cambios en el aparato fotosintético se deben a aclimatación y no a comunidades diferentes

Futuros escenarios de cambio climático

En la situación actual, bajo cobertura intermedia de dosel ($300-1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), el perifiton se caracterizó por poseer un contenido intermedio de Cl-a, parámetros fotosintéticos altos, y por lo tanto alto contenidos de C y alto C: P, en un amplio sector de los arroyos de montaña (Figura IV.7 A). Los escenarios futuros (Figura IV.7 B-C) de



cambio climático fueron armados de forma cualitativa a partir de los informes del IPCC, del CMNUCC, y de trabajos en dinámica de bosques. Bajo estas predicciones el rango de luz más favorable para los productores primarios se verá reducido.

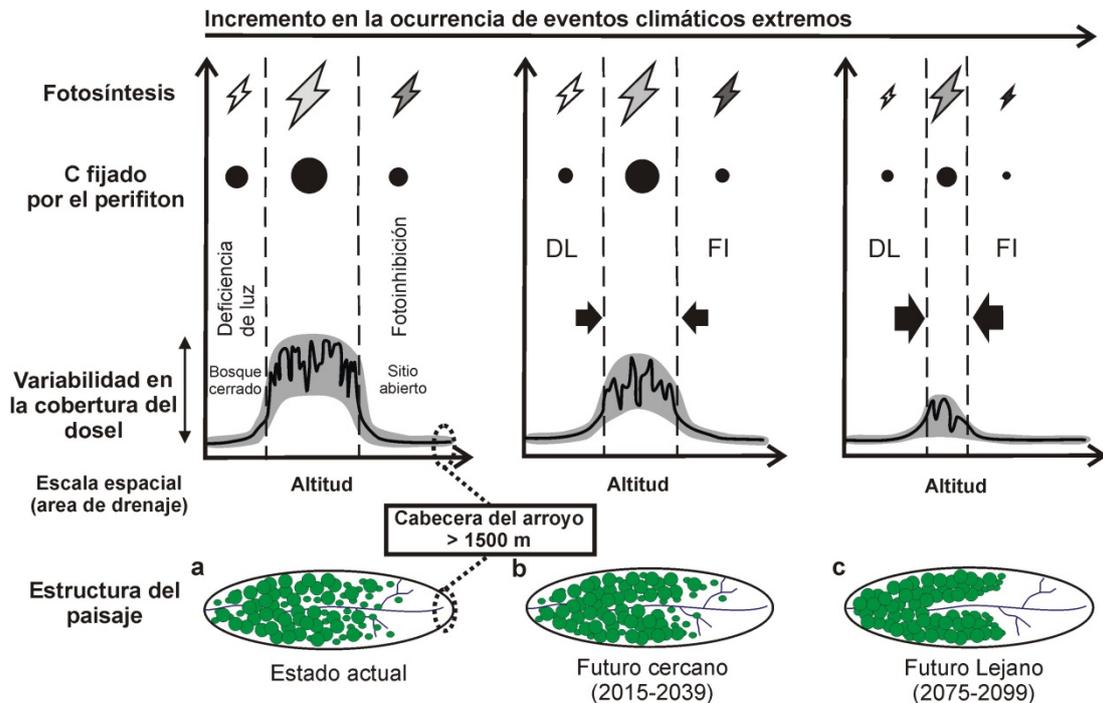


Figura IV.7: Diagrama conceptual del efecto de la disponibilidad de luz sobre los productores primarios y el perifiton (fotosíntesis y relación C: P del perifiton). El tamaño de la burbuja se refiere a C: P. El tamaño del rayo está relacionado con la eficiencia fotosintética. En ambos casos un mayor tamaño indica una relación o una eficiencia más alta. El color blanco del rayo indica una respuesta más alta de los centros reactivos a los cambios en las condiciones de luz (frente al negro). (A) el estado actual. (B) Futuro cercano: pequeños cambios en la estructura del bosque, las temperaturas del verano aumentan y disminuyen las precipitaciones de verano. (C) Futuro lejano: las altas temperaturas y las sequías de verano se intensifican. Limitación en el crecimiento de los árboles, aumenta la retracción y contracción del límite altitudinal del bosque hacia un bosque más cerrado y menos extenso. La precipitación anual durante los episodios de precipitaciones intensas en otoño y en invierno aumenta.

En un futuro próximo (2015-2039), las condiciones de luz óptimas para los productores primarios cambiarán poco; esto es debido a que los modelos predicen pequeños cambios en la estructura del bosque en su límite altitudinal (no hay cambios significativos en los patrones de temperatura y precipitación, Barros *et al.* (2013); Barros *et al.* (2015)). Sin embargo, en el futuro lejano (2075-2099), las condiciones de luz se modificarán drásticamente. La estructura del bosque se verá severamente modificada debido a los cambios en los patrones de precipitación y los incrementos en la temperatura y sequías (Suarez y Kitzberger, 2008; Suarez y Kitzberger, 2010; Barros *et al.*, 2013; Álvarez *et al.*, 2015; Suarez *et al.*, 2015). De esta forma se verá incrementada la abundancia de los parches de bosque cerrado y, por lo tanto, las situaciones de borde (doseles abiertos, Young y Leon (2007)), aumentando de esta



manera las condiciones menos favorables para el desarrollo del perifiton. Esto provocará la disminución en la tasa de fijación de C, lo cual reducirá la relación C: P. El sector con baja cobertura de dosel (que contiene perifiton fotoinhibido) se hará más próximo al sector con alta cobertura dosel (que contiene perifiton limitado por la falta de luz), dejando una banda muy estrecha donde los productores primarios tienen mejores condiciones (Figura IV.7).

Discusión

Durante el desarrollo de este capítulo se pudo observar cómo el dosel de la vegetación riparia conformada principalmente por el género *Nothofagus* afecta la llegada de luz a los arroyos de montaña en el norte de la Patagonia. El parámetro lumínico DSF se correlacionó con la disponibilidad de luz en el sotobosque. El uso del parámetro DSF integró todas las variables que afectan la llegada de luz, debido a que este parámetro se obtuvo a partir del análisis de una imagen en el cual se consideran la trayectoria del sol, la orientación del curso del arroyo, la vegetación, y la topografía.

Los cambios en la estructura del bosque afectan la biomasa y los parámetros fotosintéticos de los productores primarios y la estequiometría (C:P) del perifiton. Los resultados obtenidos sugieren que la complejidad de la estructura del bosque afecta directamente a la estequiometría del perifiton. La luz interactúa con la fotosíntesis, que a su vez afecta a la fijación del carbono y las relaciones elementales. Se observó que la disponibilidad de luz sobre los arroyos está directamente relacionada con la complejidad vertical y horizontal en las estructuras del bosque (Stovall *et al.*, 2009). Las variaciones espaciales y temporales en la radiación se producen cuando la radiación directa penetra a través de pequeñas aberturas en el dosel (*sunflecks*) (De Nicola *et al.*, 1992). Cuando se determinaron los parámetros fotosintéticos con el PAM, el pulso de luz actínica provocó un cambio en la intensidad de luz que emulaba un *sunfleck* que penetraba a través del dosel. Hemos observado que las comunidades del perifiton que crecen bajo alta disponibilidad de luz se encuentran altamente estresadas por el exceso de luz. Estas comunidades, en estas condiciones poseen una baja respuesta fotosintética para todos los parámetros fotosintéticos (ETR_r, Y/qP, 1-qP) durante el pulso SAL (Figura IV.6). Diferentes estudios han detectado una disminución en la respuesta a las variaciones espaciales y temporales en la irradiación de los productores primarios bajo estrés lumínico (Derks *et al.*, 2015); y un retraso en el transporte de electrones entre el FSII y el FSI (Khatoon *et al.*, 2009). Este proceso podría interferir con el mecanismo del NPQ



(Yamamoto *et al.*, 2014), lo que aumenta la susceptibilidad de la maquinaria fotosintética al fotodaño (Murata *et al.*, 2007b). Si se prolonga esta sobre-exposición, la fotoquímica del FSII perderá funcionalidad y eficiencia (Chan *et al.*, 2013) debido a la fotoinhibición crónica (Derks *et al.*, 2015). Por otro lado, el perifiton expuesto a condiciones de poca luz también exhibe parámetros fotosintéticos bajos durante el pulso SAL (Figura IV.6). Debido a que estos autótrofos perifíticos están creciendo en condiciones de poca luz, pueden tener una alta susceptibilidad a los cambios bruscos de irradiancia (es decir, *sunflecks* o pulsos SAL). Esta energía extra no se puede utilizar porque los centros de reacción FSII se cierran para evitar el fotodaño, lo que aumenta la disipación de calor (alto NPQ) (Figura IV.6 D).

Estudios anteriores han sugerido que la producción primaria aumenta monótonamente con la disponibilidad de luz con una meseta entre 100 a 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Hill y Fanta, 2008; Hill *et al.*, 2009). Hill *et al.* (2009) utilizó un rango de irradiancias que son comunes en arroyos sombreados, y encontró que la radiación instantánea que satura el crecimiento fue de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En los resultados se observó una tendencia acampanada, con un punto de saturación $\sim 250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un punto de declive $\sim 750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las diferencias en la saturación de la luz (100 - 400, 250 - 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) pueden ser atribuidas a la historia de luz de los productores primarios que están expuestos a irradiancias más variables y altas durante todo el día que en los experimentos de laboratorio (Hill y Fanta, 2008; Hill *et al.*, 2009) bajo condiciones de irradiancia controlada y constante. El cambio en la tendencia de un aumento hacia un máximo, a una respuesta en forma de campana, tiene consecuencias importantes en la predicción de la respuesta de los productores primarios del perifiton a cambios en las condiciones ambientales de luz.

La relación entre C y Cl-a puede indicar la importancia de los productores primarios en relación a los heterótrofos y el contenido detrítico (Geider, 1987; Goedkoop y Johnson, 1996). Los valores de las relaciones C:Cl-a < 100 indican un alto contenido algal mientras que los valores hasta 200, indican una contribución aún significativa del C de las algas al contenido de C del perifiton (Geider, 1987; Frost *et al.*, 2005c). De los datos obtenidos de C:Cl-a casi el 69% de las muestras tenían menos de 100 y todas las relaciones C:Cl-a de las muestras (media de 4 réplicas) estaban por debajo de 200. Sin embargo, durante el experimento del capítulo III se observó que la condición con mayor disponibilidad de luz superaba los 200. Por lo tanto, todas las



mediciones de C:Cl-a sugieren que los productores primarios son funcionalmente importantes en la matriz del perifiton y el análisis de los parámetros fotosintéticos reflejaría la dinámica de perifiton,

Los cambios observados en los parámetros fotosintéticos de los productores primarios tienen consecuencias en su estequiometría elemental. Frente a la baja disponibilidad de luz (bajo DSF, alta cobertura de dosel) y debido a la limitación por luz, los productores primarios aumentan la captura de fotones mediante el mantenimiento de una alta proporción de centros reactivos abiertos (Figura IV.6 D). Hill y Dimick (2002) estudiaron el efecto de los cambios estacionales en la disponibilidad de luz en el perifiton y encontraron que la eficiencia de utilización de la luz fue máxima en condiciones de poca luz. Esta limitación por luz resulta en una baja fijación de C, que afecta la composición elemental del perifiton, resultando en una reducción en el contenido de carbono (bajo C: P y baja relación C:Cl-a) (Figuras IV.3-4-5). En contraste, en condiciones de alta disponibilidad de luz (baja cobertura de dosel, alto DSF) los productores primarios mostraron bajo contenido de Cl-a (Figura IV.2) y una alta relación C: Cl-a (Figura IV.4). Estos hallazgos sugieren que el tamaño de las antenas de captación de luz se redujeron (Croce y van Amerongen, 2014) con una consecuente disminución en la eficiencia de captación de fotones (Horton *et al.*, 2008). Si se prolonga esta situación, los autótrofos también pueden exudar significativas cantidades de carbono orgánico (principalmente, sustancias exopoliméricas) (Rader y Belish, 1997). Una lenta descomposición de esta materia orgánica pobre en nutrientes causaría una reducción en la prevalencia de células algales (Frost *et al.*, 2002b). Al mismo tiempo, las bacterias heterótrofas y hongos asociados con el perifiton pueden convertirse en una importante reserva de carbono, disminuyendo la importancia relativa de la biomasa algal (Hillebrand y Kahlert, 2002). Sin embargo y como ya se mencionara, en la mayoría de los resultados obtenidos la relación C:Cl-a fueron < 100 y todos < 200 , indicando una alta importancia de la biomasa de algas en la matriz del perifiton. Los productores primarios que permanecen en condiciones de alta disponibilidad de luz y bajas concentraciones de nutrientes, han comprometido seriamente su mecanismo fotosintético (baja eficiencia y baja velocidad de transporte de electrones, Figura IV.6). Por lo tanto, una disminución en la fijación fotosintética de C resulta en una baja relación C: P (Figuras IV.3 y IV.5). Por el contrario, las condiciones intermedias de luz dieron lugar a la optimización de los procesos fotosintéticos; se observó alto ETRr y alta eficiencia por centro reactivo abierto (Y/qP) (Figura IV.6).



Estas condiciones de luz son la consecuencia de la combinación de sombras y *sunflecks*, Los productores primarios ubicados en este intervalo fueron beneficiados por una irradiancia fluctuante.

Predicciones de Cambio Climático

Según el IPCC (Magrin *et al.*, 2014) y la CMNUCC (Barros *et al.*, 2013), los eventos climáticos inusualmente extremos durante las últimas décadas del siglo XX (precipitaciones extremas durante el otoño y el invierno, y la prolongada sequía/ ola de calor durante el verano) han afectado severamente el sur de América del Sur (Nuñez *et al.*, 2008). Los bosques responden al cambio climático mediante la alteración de su área de distribución y su densidad, lo que resulta en cambios en la estructura de la vegetación (Suarez y Kitzberger, 2010; Iglesias *et al.*, 2012). El clima del norte de la Patagonia influye en la dinámica de los bosques de *Nothofagus* a través de la sequía y la humedad, que a su vez también producen variaciones en la estructura del dosel (Suarez y Kitzberger, 2010; Suarez *et al.*, 2015). En particular, el crecimiento de *N. pumilio* en el límite altitudinal del bosque está influenciado por las condiciones climáticas anteriores y concurrentes a la temporada de crecimiento (Álvarez *et al.*, 2015); los efectos combinados de los veranos más cálidos (proyección de confianza media-alta) y el incremento de los déficits de agua (proyección de confianza media) se traducirán en un menor crecimiento radial (Magnin *et al.*, 2014). Teniendo en cuenta los intensos déficits de agua previstos, se espera que el límite arbóreo de *N. pumilio* tienda a retraerse a los lugares más húmedos donde pueden ser favorecidos (Daniels y Veblen, 2004; Young y Leon, 2007). Con lo cual, se espera que los doseles abiertos tiendan a incrementarse (Young y Leon, 2007). Esto producirá un ambiente de luz excesiva para las comunidades perifíticas de los arroyos, que se verán fotoinhibidas (ver FI en la Figura IV.7). Alternativamente podría suceder que los arboles se concentrasen en las riberas de los arroyos (mayor disponibilidad de humedad), disminuyendo de esta forma la disponibilidad lumínica para los productores primarios del perifiton. Los escenarios futuros (sobre todo el futuro lejano de 2075 a 2099) predicen un aumento de los eventos extremos de precipitación (proyección de confianza media). Estos eventos extremos que incluyen lluvias torrenciales y sequias aumentarían la deforestación natural e incrementarían los doseles abiertos. Sin embargo también podría ocurrir que a menores altitudes en lugares más húmedos cercanos a los arroyos la probabilidad de parches cerrado se incremente, disminuyendo la disponibilidad lumínica en los arroyos (ver DL



en la Figura IV.7). Esta reducción en las condiciones de luz (pérdida de heterogeneidad) aumenta las limitaciones de la producción primaria, como consecuencia de la deficiencia o el exceso de luz. Por lo tanto, se espera que las condiciones de luz intermedias en los arroyos se vean reducidas (Figura IV.7 B-C) y los cambios en la eficiencia de la captación de luz debido a los cambios en el dosel influirán en la estequiometría del perifiton.

Asimismo el incremento en la probabilidad de ocurrencia de fenómenos meteorológicos extremos (por ejemplo, sequías e inundaciones) modificarán los regímenes de escorrentía, hidrología, y temperatura. Los cambios en el régimen de precipitaciones afectarán la cantidad y el momento de los aportes detríticos desde ambientes terrestres en relación con la producción acuática *in situ* (Mulholland *et al.*, 2009). En el caso que se incremente el ingreso de detrito de origen orgánico este incrementará la fracción heterotrófica de las comunidades acuáticas. Por otro lado el aumento en el ingreso de sedimentos inorgánicos, la fracción autotrófica se verá incrementada, por disminución de la fotoinhibición (Capítulo III). Los cambios en la erosión y la hidrología pueden aumentar la escorrentía (Milly *et al.*, 2005) y esto producirá modificaciones en los aportes de materia orgánica alóctona (Kominoski y Rosemond, 2012). El aumento de la temperatura pueden promover la actividad microbiana y el secuestro de nutrientes asociado con la materia orgánica, generando un procesamiento microbiano mayor (Boyero *et al.*, 2011). Por último, los cambios en la cantidad y calidad de los detritos terrestres y en los autótrofos alterarán la producción microbiana en las redes tróficas acuáticas (Kominoski y Rosemond, 2012).

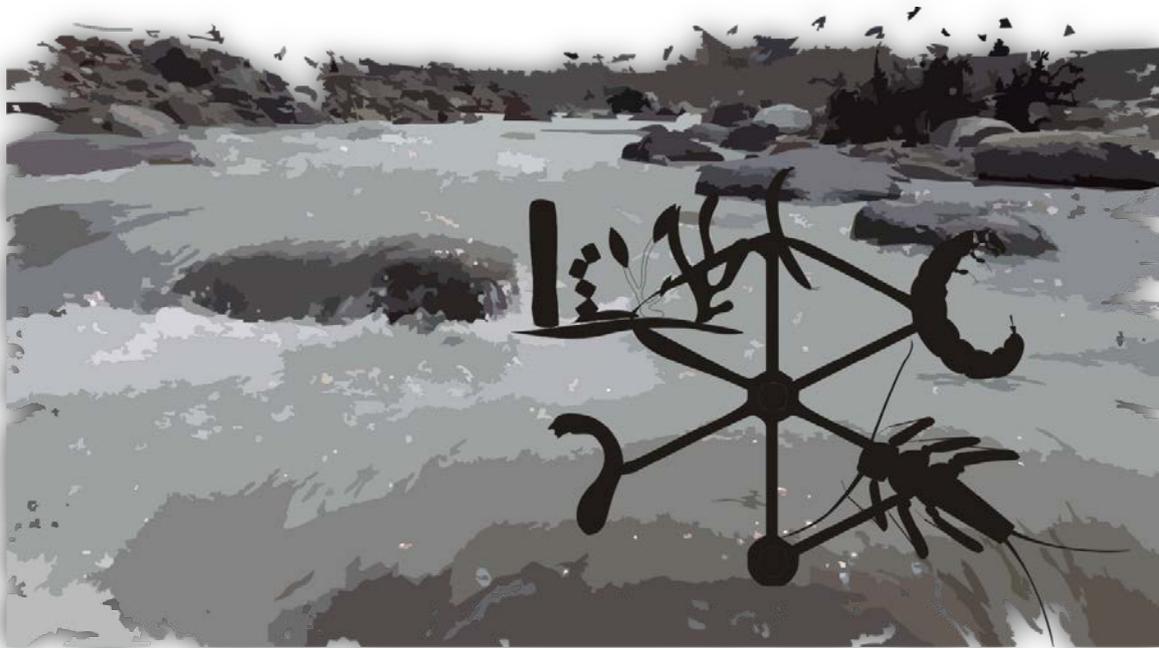
Al igual que en los Andes Patagónicos, se espera que la dinámica del bosque alpino de todo el mundo sufra cambios debido a las condiciones climáticas imperantes. El aumento de las olas de calor, las inundaciones y sequías darán lugar a una disminución en la cobertura de los bosques (Palmer *et al.*, 2009; Williamson *et al.*, 2014). Sin embargo, en algunos lugares, los bosques están moviéndose por encima del límite altitudinal del bosque (Donato, 2013) y cada vez se hacen más densos (Dial *et al.*, 2007). Esto afectaría el desarrollo de sectores óptimos para el crecimiento del perifiton. Por lo tanto, es importante tener en cuenta que los bosques no sólo actúan como donantes de los ecosistemas fluviales, como en los modelos clásicos, sino que también modulan la producción de carbono orgánico autóctono a través de efectos directos sobre la disponibilidad de luz. Por último, es necesario desarrollar proyecciones de cambio



climático que tengan en cuenta la dinámica del dosel de la vegetación de ribera debido a que afectan la estequiometría de la comunidad del arroyo.

CAPITULO V

EL NIVEL TRÓFICO SUPERIOR: MACROINVERTEBRADOS EN AMBIENTES LÓTICOS GLACIARES



Introducción

Los ambientes asociados a glaciares son esencialmente heterogéneos debido a que poseen una alta variabilidad espacial y temporal dada por la dinámica interacción entre la atmósfera y la criósfera. Esta relación es muy susceptible a la variabilidad climática, que produce modificaciones cualitativas (por ej., periodicidad y características físico-químicas) y cuantitativas (volumen) en los sistemas subsidiados por el agua de deshielo. Esto hace que los ambientes glaciares sean unos de los más vulnerables al cambio climático (Milner *et al.*, 2011; Benn y Evans, 2014).

El aumento de la temperatura mínima en regiones con glaciares, aumenta la escorrentía del agua de deshielo hacia los lagos; sin embargo esta misma carga hidrológica posee una influencia más marcada sobre los arroyos (Slemmons *et al.*, 2013). De hecho, la presencia de lagos en las cuencas glaciares probablemente module el flujo de agua en las redes de arroyos (Robinson *et al.*, 2001; Robinson *et al.*, 2002; Hieber *et al.*, 2003), incrementado la estabilidad del caudal (Milner *et al.*, 2009). No obstante, el ambiente del arroyo directamente aguas debajo del glaciar se caracteriza por poseer temperaturas muy bajas y un canal inestable (Hannah *et al.*, 2007). Con el



aumento de la distancia desde el glaciar, el entorno del arroyo se vuelve menos influenciado por el origen glaciar, y la temperatura del arroyo tiende a incrementarse así como también la estabilidad del canal (Milner *et al.*, 2001a; Jacobsen *et al.*, 2010).

Las condiciones ambientales adversas y el escaso y limitado suministro de energía (tanto de fuentes alóctonas como autóctonas) comunes a los arroyos glaciares restringirían las fuentes de alimentos para los consumidores (Uehlinger y Naegeli, 1998; Zah *et al.*, 2001). Los niveles superiores de las redes tróficas de estos ambientes están dominados por aquellos invertebrados capaces de adaptarse a la variabilidad ambiental provocada por los glaciares (Jacobsen, 2004; Cauvy-Fraunié *et al.*, 2014; Jacobsen *et al.*, 2014a; Cauvy-Fraunie *et al.*, 2015). Ambientes más estables proporcionan un medio más próspero para la proliferación de los macroinvertebrados (Milner *et al.*, 2009), por ello, las comunidades de invertebrados bentónicos en los arroyos alimentados por glaciares muestran un aumento de la diversidad a medida que se incrementa la distancia al glaciar (Castella *et al.*, 2001; Maiolini y Lencioni, 2001; Jacobsen *et al.*, 2012; Jacobsen y Dangles, 2012; Cauvy-Fraunié *et al.*, 2014). Por lo tanto, las interacciones entre especies son más intensas a lo largo del *continuum* desde un ambiente severo hacia uno más benigno (Brown y Hannah, 2007; Brown *et al.*, 2007). Sin embargo, otros estudios han evidenciado una relación acampanada entre la influencia glaciar y la α -diversidad, lo que sugiere una alta selección ambiental frente a un alto nivel de influencia glaciar, y a medida que el nivel de la influencia de los glaciares disminuye la forzante será la competencia ya que la alta dominancia de especies competitivamente superiores incrementa la exclusión por competencia (Jacobsen y Dangles, 2012; Cauvy-Fraunié *et al.*, 2014). Por último, la diversidad de invertebrados y la abundancia en los arroyos glaciares también pueden exhibir una alta variación espacio-temporal debido a los cambios estacionales en la esorrentía del glaciar y a la disponibilidad del alimento (Burgherr *et al.*, 2001; Burgherr y Ward, 2001).

Los productores primarios (autótrofos) constituyen la fuente de energía más importante en los ecosistemas de los arroyos alimentados por glaciares (Füreder *et al.*, 2003; Hieber *et al.*, 2003; Rott *et al.*, 2006a; Rott *et al.*, 2006b), debido a que generalmente se encuentran por encima del límite altitudinal del bosque y la energía y la materia proveniente desde el medio terrestre son escasas (Milner *et al.*, 2009). Los cambios en la claridad del agua y la concentración de nutrientes no sólo pueden afectar la biomasa perifiton, sino también su balance elemental, su estequiometría (específicamente C:P) (ver capítulos III y IV; y Sterner y Elser (2002)). Las algas del



perifiton son susceptibles a estar adaptadas a condiciones de poca luz, con lo que pueden mostrar poca alteración en su relación C: nutrientes (principalmente N y P), en respuesta a los cambios en el nivel de luz (Qin *et al.*, 2007). Sin embargo los ambientes lóticos subsidiados por glaciares poseen una vegetación exigua que no modifica las altas intensidades lumínicas (Smith *et al.*, 2001). Con lo cual, las variaciones intra-anales de caudal-esorrentía (Smith *et al.*, 2001; Milner *et al.*, 2009) alteran el contenido de arcillas en suspensión y con ello la luz que llega al lecho de los arroyos (ver capítulos II y III). Consecuentemente esto hace que la estequiometría (C:N:P) de los productores primarios de arroyos glaciares sea extremadamente variable, más allá de la flexibilidad estequiométrica natural de los productores primarios (Hipótesis Luz: Nutrientes).

Las algas toman por separado los nutrientes (N y P) en función de su disponibilidad y, por otro lado, fijan C dependiendo de la disponibilidad de luz (Sterner *et al.*, 1997; Diehl *et al.*, 2005). En cambio los heterótrofos generalmente ingieren todos los elementos “empaquetados” ya sea en el recurso algal (Frost *et al.*, 2005a; Frost *et al.*, 2005b), en el detrito (Cross *et al.*, 2003) o en la fragmentación del material autóctono (Danger *et al.*, 2013). Las relaciones más bajas de C: nutrientes en el recurso alimentario indican mejor calidad para los consumidores primarios mientras que las relaciones más altas de C: nutrientes, implican una peor calidad de alimento (Stelzer y Lamberti, 2001; Frost *et al.*, 2002a). Por esta razón, la energía y los nutrientes disponibles en los productores primarios, en muchas ocasiones no serán exactamente las relaciones elementales requeridas por los consumidores primarios (pastoreadores), lo que implicaría la existencia de un desbalance entre los recursos y los consumidores (Sterner y Elser, 2002). Sin embargo, aunque los consumidores se ven afectados por la calidad de su alimento, son relativamente rígidos en sus relaciones elementales y no reflejan exactamente la composición elemental de sus recursos disponibles (Sterner y Elser, 2002). El grado en que los organismos regulan su composición elemental es la homeostasis estequiométrica que es la resistencia de la composición interna de un organismo a la variabilidad externa, dada por los recursos que ingiere (Sterner y Elser, 2002). Los pastoreadores ingerirán recursos algales con diferentes proporciones elementales, lo cual los llevará a enfrentar un desbalance elemental (Elser *et al.*, 2003; Moe *et al.*, 2005), y la resistencia a ese desbalance es la homeostasis, que a su vez puede presentar cierto grado de variación (Hessen *et al.*, 2002; Sterner y Elser, 2002).

Los pastoreadores macroinvertebrados de los arroyos contribuyen al suministro de nutrientes vía excreción (Dahm *et al.*, 1998; Fisher *et al.*, 1998; Balseiro y Albariño,



2006) o al incrementar la disponibilidad de recursos (Steinman, 1996). Asimismo los pastoreadores también pueden mejorar la disponibilidad de nutrientes para algunos productores perifíticos mediante el consumo y reducción de algas de crecimiento arborescente o filamentosas, destruyendo las capas superiores del perifiton o reduciendo la parte senescente o la carga de sedimentos (McCormick y Stevenson, 1991). Entonces además de la egestión y excreción de nutrientes, los pastoreadores aumentan el acceso a nutrientes disponibles mediante la reducción de las algas y las barreras de difusión, o reduciendo la cantidad de detrito (McCormick y Stevenson, 1991; Hillebrand y Kahlert, 2001). Por ello los pastoreadores de los arroyos cumplen un importante papel al interconectar los diferentes componentes de la red trófica del bentos. Esta importancia se incrementa en los arroyos glaciares, donde las interacciones pastoreador-nutrientes-perifiton son más fuertes debido a la menor riqueza taxonómica que se registra en estos ambientes (Clitherow *et al.*, 2013).

El presente capítulo se centra en el hecho que los cambios climáticos y la consecuentemente retracción glaciar, afectan el ingreso de arcillas glaciares y, por ende, la relación luz: nutrientes de los productores primarios. A partir de aquí se propone analizar el efecto de la retracción glaciar sobre niveles tróficos superiores, en particular la diversidad de macroinvertebrados y a su relación elemental C:N:P.



Objetivo General

Determinar el efecto del ingreso de arcillas glaciares sobre el ensamble de macroinvertebrados bentónicos de arroyos glaciares norpatagónicos, tanto en su composición taxonómica como en sus relaciones elementales estequiométricas

Objetivos Específicos

- Analizar y comparar las comunidades de macroinvertebrados que habitan arroyos con diferentes condiciones de turbidez.
- Analizar el efecto de la dinámica de arroyos glaciares sobre la comunidad de pastoreadores.
- Analizar las variaciones en la composición elemental estequiométrica (C:N:P) de la comunidad de macroinvertebrados.
- Relacionar la composición elemental estequiométrica (C:N:P) a lo largo de la cadena trófica (productores primarios- pastoreadores- depredadores invertebrados).

Hipótesis

La composición elemental de los diferentes ensambles de macroinvertebrados, en particular los pastoreadores, será afectada por la turbidez y los gradientes lumínicos.

Predicciones

En los arroyos afectados por las arcillas el C:P del perifiton será más elevado y, por lo tanto, de menor calidad para los pastoreadores, en consecuencia dominarán los pastoreadores de menores requerimientos de fósforo (menor P corporal, mayor C:P).



Métodos

Procedimientos de Muestreo

Se tomaron muestras de los arroyos Negro y Blanco, durante el otoño, primavera y verano del 2012, 2013 y 2015; con un total de siete fechas de muestreo. Cada uno de los ríos fue muestreado 500 m arriba de la zona de confluencia de los arroyos Negro y Blanco (misma localización que las muestras extraídas para el Capítulo I). En dos ocasiones (durante el verano 2013), ambos arroyos fueron muestreados 2 m antes de la confluencia (UB: Unión Blanco y UN: Unión Negro). Las fechas de los muestreos (durante 2012 y 2013) son coincidentes con los muestreos del Capítulo II y se utilizaron los datos obtenidos en los análisis físicos y químicos del agua, así como también en los análisis de la comunidad perifítica (composición comunitaria de los productores primarios en base al biovolumen, Cl-a, C, C:P, C:Cl-a). La velocidad de corriente del arroyo se estimó con un flujometro HYDRO-BIOS GmbH.

Los macroinvertebrados bentónicos fueron colectados con un dispositivo de muestreo tipo Surber con malla de 250 μm de apertura de poro y con una superficie de muestreo de 0,09 m^2 . En cada ocasión de muestreo se colectaron cinco réplicas. Las muestras de Surber (cada réplica) se almacenaron individualmente en una bolsa de plástico hermética y de inmediato fueron trasladadas al laboratorio en condiciones de oscuridad en recipientes con aislamiento térmico.

Procedimientos de Laboratorio

Las muestras de macroinvertebrados colectadas fueron trasladadas al laboratorio donde se lavaron inmediatamente con agua destilada y tamizaron sucesivamente para facilitar su fraccionamiento. Luego en bandejas plásticas todos los macroinvertebrados se separaron cuidadosamente para su posterior reconocimiento. Una vez separados fueron congelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis estequiométrico. Los ejemplares separados fueron identificados y contados bajo lupa y/o microscopio estereoscópico al menor nivel taxonómico posible. Para ello se utilizaron claves y descripciones tales como Merritt y Cummins (1996a), Albariño (1997), Dominguez y Fernández (2009), Mercado y Elliott (2004), y McLellan *et al.* (2006). Sin embargo, ciertos especímenes son difíciles de identificar (e.j. Chironomidae, Blephariceridae y Athericidae) lo que hizo difícil llevar a cabo un análisis homogéneo a nivel de especie o inclusive a nivel de género. Por lo tanto, en estos casos se los separó a nivel de familia. Todos los taxa de macroinvertebrados colectados fueron clasificados según su hábito de alimentación en



los diferentes grupos funcionales alimentarios (GFAs) (Cummins y Klug, 1979) (Tabla V.1). Para ello, también se consultó bibliografía de referencia particular: Merritt y Cummins (1996b); Díaz Villanueva y Albariño (1999); Albariño y Balseiro (2002); Velásquez y Miserendino (2003); Díaz Villanueva *et al.* (2004); Díaz Villanueva y Modenutti (2004); Albariño y Díaz Villanueva (2006); Hollmann y Miserendino (2006); Brand y Miserendino (2011).

Tabla V.1: Grupos funcionales alimentarios en relación al alimento consumido (tomado de Cummins y Klug, 1979)

Grupo Funcional alimentario (GFA)	Nivel Trófico	Recurso Explotado
Raspador (Pastoreador)	Herbívoros / Detritívoros	Algas y material asociado (perifiton)
Fragmentadores	Detritívoros	Materia orgánica particulada gruesa (MOPG), madera
Colectores recolectores	Detritívoros	Materia orgánica particulada fina (MOPF) sedimentada y células algales vivas.
Colectores filtradores Depredadores	Detritívoros, Herbívoros Carnívoros	MOPF en suspensión. Animales vivos.

Los individuos de cada taxa fueron analizados para conocer el contenido de Carbono (C), Nitrógeno (N) y Fósforo (P). Para ello, se procedió a descongelarlos y separarlos nuevamente bajo lupa y/o microscopio estereoscópico y posteriormente se los colocó en una estufa durante 48 hs. A continuación, los ejemplares de cada taxon con sus réplicas fueron pesados y los macroinvertebrados mayores a 1 cm de largo se homogeneizaron en un mortero y posteriormente fueron pesados. El contenido de C y N de cada muestra fue determinado con un analizador elemental CN (Termo Finnigan EA 1112). Para el análisis del contenido de P total, se utilizó el procedimiento indicado por Rosemond *et al.* (1993) que incluye la digestión de las muestras de invertebrados por combustión a 500°C, seguido por la adición de HCl 1 N y posteriormente cuantificado por el método del ácido ascórbico (Eaton *et al.*, 2005). El contenido total de C, N, P se indica como porcentaje del peso seco (% de C, N o P mg de muestra seca). Las relaciones elementales (C: P, C: N, y N: P) son molares en base al peso seco de la muestra (e.j. μmol de C por mg de peso seco).

Experimento de Campo

Los efectos de la luz sobre los productores primarios, analizados en el Capítulo II mostraron diferencias en el contenido elemental (C:P) de los mismos y, por lo tanto, diferente calidad del alimento para los macroinvertebrados pastoreadores del bentos.

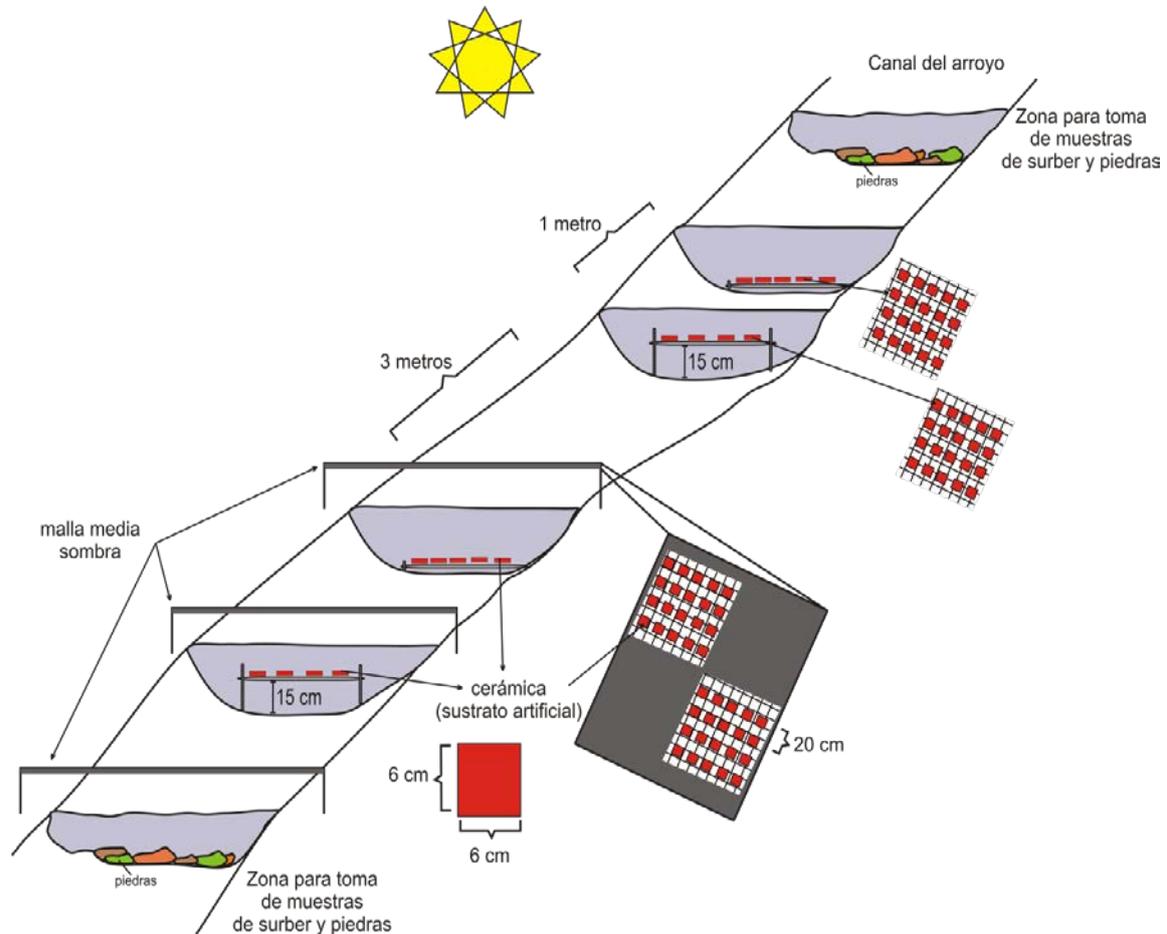


Figura V.1: Esquema del experimento realizado en el arroyo Blanco.

Con el fin de cuantificar el efecto de la calidad del alimento sobre la comunidad de los pastoreadores (sobre la diversidad y la estequiometría), se diagramó un experimento in situ en el arroyo Blanco. Para lo cual se establecieron dos condiciones lumínicas contrastantes tal como fuera descrito en el Capítulo IV: (a) con media sombra neutra: con una irradiancia máxima de $497 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y (b) sin media sombra: con una irradiancia máxima de $2414 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Asimismo, bajo cada tratamiento lumínico se colocaron cerámicas de 6x6 cm sobre el lecho del arroyo (AB) y a 15 cm del mismo (AR); para de esta forma determinar la relación e interacción entre herbivoría y luz (Figura V.1, Tabla V.2).



El experimento se llevó a cabo durante el verano (17 de diciembre al 2 de abril de 2014), con una duración total de 106 días. Al inicio del experimento, se realizó un muestreo de macroinvertebrados y perifiton del arroyo Blanco de la misma que forma que los muestreos realizados periódicamente (ver zona muestreo de piedras -perifiton- y con Surber (macroinvertebrados), Figura V.1). Posteriormente, se realizaron muestreos del sistema experimental en cuatro ocasiones: a los 20, a los 34, a los 65 y a los 106 días de iniciado el experimento. En cada ocasión se tomaron 5 muestras con Surber y 4 piedras en cada tratamiento de luz (Tabla V.2), para de esta forma cuantificar la calidad de alimento de los pastoreadores. Asimismo se retiraron 5 muestras de cerámicas de cada posición y de cada tratamiento lumínico para analizar el efecto combinado de la luz con el pastoreo (Tabla V.2). Todos los sustratos (piedras y cerámicas) fueron colocados individualmente en recipientes de plástico e inmediatamente transportados al laboratorio en condiciones de oscuridad en recipientes con aislamiento térmico. En el laboratorio, se rasparon dichos sustratos y se procedió de igual forma que en los capítulos anteriores, estimando los mismos parámetros (C, N, P y Cl-a).

Tabla V.2. Metodología de muestreo para el experimento en cada tratamiento de luz (con y sin media sombra).

Muestra colectada		Mediciones realizadas	Función
CERÁMICAS	5 AR	C, N, P, Cl-a	→ Efectos de luz y pastoreo
	5 AB		
PIEDRAS	4 piedras	C, N, P, Cl-a	→ Calidad de alimento para pastoreadores → Composición algal
SURBER	5 colectas	Macroinvertebrados	→ Abundancia de macroinvertebrados → Abundancia de pastoreadores → Diversidad (taxonómica y funcional) → Estequiometría (C:N:P)

La disponibilidad de luz se estimó a través de los datos obtenidos de una estación meteorológica ubicada a 20 km (Pto. Blest) al NO del sitio del experimento, y fueron corregidas periódicamente (cada dos semanas) utilizando mediciones directas de luz, con un radiómetro portátil Armour SL-125 (Biospherical Instruments Inc., San Diego, CA, EE.UU.). Durante el transcurso del experimento se monitoreo la



temperatura y los niveles de agua con un registrador de datos (*data-logger* U20 HOBO; Onset, Bourne, MA, EE.UU.).

Análisis estadístico y cálculos

La diversidad (taxonómica y funcional basada en GFA) de macroinvertebrados bentónicos para cada arroyo y para cada fecha fue calculada usando el índice de diversidad de Shannon (H') (Shannon y Weaver, 1949). Este índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa.

La ecuación utilizada es:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i$$

S = número de especies (riqueza de especies)

p_i = proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (es decir la abundancia relativa de la especie i), n_i/N

n_i = número de individuos de la especie i

N = número de todos los individuos de todas las especies

Para analizar la existencia de diferencias en la diversidad y la riqueza específica de macroinvertebrados entre los arroyos y en los diferentes muestreos, se aplicaron análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA) seguidos de pruebas *a posteriori* de Tukey para realizar comparaciones múltiples. Asimismo se utilizaron modelos mixtos lineales generalizados (GLMM) para armar modelos log-lineales con una distribución de Poisson (Leathwick y Austin, 2001) utilizando R (Team R, 2015) para poner a prueba los efectos de 8 variables ambientales: STS, conductividad, O₂ disuelto, Cl- α , contenido de C del perifiton, COD, T° del aire (promedio de los 3 días anteriores al muestreo), y la precipitación (suma de los 3 días anteriores a cada muestreo); sobre la diversidad taxonómica y funcional. Se utilizó la temperatura del aire promedio de los 3 días anteriores al muestreo y no la temperatura del día de muestreo debido a que esta última está condicionada al momento del muestreo y puede no representar lo que sucedió días anteriores al muestreo. De forma similar se procedió con el caso de las lluvias.

Asimismo se realizó un GLMM con las mismas funciones de enlace que para diversidad, para analizar la variación en la abundancia de los pastoreadores más



representativos (más abundantes del ensamble) en función de las siguientes variables: condiciones ambientales (precipitación, T° del aire, O₂ disuelto, conductividad y STS), temporada (los muestreos fueron clasificados según las 4 estaciones), tipo de recursos alimentarios (abundancias % de diatomeas erectas, diatomeas postradas, clorofitas, en base a los biovolúmenes calculados en el Capítulo II), interacciones ecológicas (competencia –abundancia de otros pastoreadores- y depredación –abundancia de depredadores-). Para ambos GLMM (diversidad y abundancia) se procedió al igual que para el Capítulo IV y se utilizó el criterio de $\Delta AIC < 2$ para determinar el conjunto de modelos más representativo (Grueber *et al.*, 2011).

Por otro lado, se analizó la estequiometría de todos los macroinvertebrados que fueron capturados en ambos arroyos durante los muestreos. Se evaluó la influencia de la estequiometría del perifiton sobre los pastoreadores; y de estos últimos sobre los depredadores. Para ello, la interacción fue analizada por regresión lineal graficando los logaritmos de la estequiometría del consumidor versus la del recurso ($\log C:X$ consumidor = $a + b \log C:X$ alimento; donde X es N o P) (Sternner y Elser, 2002). Asimismo se cuantificó el nivel de homeostasis de los pastoreadores y de los depredadores y se evaluó el desbalance elemental en relación con el gradiente lumínico (ya que la tasa de fijación de C depende de la disponibilidad de luz –tercer y cuarto capítulo-). Esta medida fue realizada tomando la diferencia entre los logaritmos de las relaciones elementales del alimento y del tejido animal (Desbalance = $\log C:X$ alimento – $\log C:X$ consumidor).

Por último, se evaluaron los resultados del experimento (Tabla V.2). Por un lado, se analizó el efecto de la turbidez y la luz sobre la diversidad de macroinvertebrados y sobre la estequiometría de los pastoreadores (piedras y muestras Surber en tabla V.2) mediante un ANOVA de dos vías. Las variables independientes fueron: tiempo y condición lumínica (con y sin red neutra), y las variables respuesta fueron: abundancia y diversidad de macroinvertebrados, y relaciones C:N y C:P de los pastoreadores. Por otro lado, se evaluó el efecto de los pastoreadores (herbivoría) sobre los productores primarios (cerámicas en Tabla V.2). Para ello se aplicó un ANOVA de tres vías y se consideraron los siguientes factores: momento de muestreo -tiempo- (20, 34, 65 y 106 días), condición lumínica (con y sin red neutra), y posición del cerámico (arriba que excluye pastoreadores y abajo con presencia de pastoreadores). Como variables respuesta del ANOVA de tres vías fueron consideradas: contenido de clorofila (mg m^{-2}), contenido de C (mg m^{-2}), relación C:P (atómico) y relación C: Cl-a (g g^{-1}).



Los gráficos y análisis fueron realizados con el programa Sigma Plot.12 (Systat Software Inc, San Jose, CA, EE.UU.). En todos los casos se verificó la normalidad y homocedasticidad previo a todos los análisis estadísticos.

Resultados

Arroyos

Como ya se mencionó, una de las principales diferencias entre los arroyos Blanco y Negro es la carga de sólidos totales en suspensión (STS, Tabla V.3). Esto hizo que el ambiente lumínico en el fondo de los arroyos sea significativamente diferente (test-t pareado, $p < 0,001$; Tabla V.3). La conductividad y la temperatura variaron significativamente (Tabla V.3), mientras que la velocidad de corriente y el oxígeno disuelto no mostraron diferencias significativas (Tabla V.3).

Las diferencias lumínicas afectaron significativamente la actividad fotosintética de los productores primarios y en consecuencia en el contenido de clorofila y carbono (ver Capítulo II). Resumiendo: el contenido de clorofila fue significativamente diferente (test-t pareado, $p < 0,001$) siendo 10 veces menor en el arroyo Blanco ($1,1 \pm 0,6$ mg Cl-*a* m⁻²) que en el arroyo Negro ($11,3 \pm 9,0$ mg Cl-*a* m⁻²). El perifiton del arroyo Negro tuvo 2 veces más (1,96) contenido de C que el arroyo Blanco (Tabla V.4) y la relación C:P fue 2 veces mayor (1,93) en el arroyo Negro que en el Blanco. Esta diferencia también se observó en el C:N que fue 1,5 veces mayor en el arroyo Negro con respecto al Blanco. La Tabla V.4 resume las diferencias existentes en las variables perifíticas.

Tabla V.3: Promedio (\pm desviación estándar) de los muestreos realizados de las características limnológicas de los arroyos Blanco y Negro.

	STS mg L ⁻¹	Luz $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	DOC mg L ⁻¹	Conductividad $\mu\text{S cm}^{-1}$	Velocidad m s ⁻¹	Temperatura (°C)	Oxígeno mg L ⁻¹
Blanco	3,7 \pm 3,0	1505,3 \pm 197,6	0,4 \pm 0,2	22,5 \pm 5,8	0,8 \pm 0,3	8,9 \pm 1,8	9,5 \pm 2,0
Negro	46,0 \pm 35,2	832,3 \pm 397,1	0,6 \pm 0,1	47,6 \pm 9,6	1,3 \pm 0,7	3,3 \pm 1,1	9,9 \pm 2,0
test	test-t pareado $p < 0,001$	test-t pareado $p < 0,001$	test-t pareado $p = 0,3$	test-t pareado $p = 0,007$	test-t pareado $p = 0,3$	test-t pareado $p < 0,001$	test-t pareado $p = 0,6$


Tabla V.4: Promedio (\pm DS) de los parámetros del perifiton analizados de los arroyos Blanco y Negro. Las relaciones elementales C:P, C:N y N:P son atómicas.

	PERIFITON						
	mg C m ⁻²	mg N m ⁻²	mg P m ⁻²	C:Cl-a (g g ⁻¹)	C:P	C:N	N:P
Blanco ^(a)	269,8 \pm 194,5	29,9 \pm 11,5	3,1 \pm 1,9	220,4 \pm 174,9	188,8 \pm 79,8	14,8 \pm 7,3	29,6 \pm 16,8
Negro	530,7 \pm 215,0	28,6 \pm 8,5	6,2 \pm 3,1	64,6 \pm 35,9	288,9 \pm 192,7	22,1 \pm 8,1	16,4 \pm 6,2
test	test-t pareado $p < 0,001$	test-t pareado $p = 0,4$	test-t pareado $p = 0,1$	test-t pareado $p < 0,001$	test-t pareado $p = 0,004$	test-t pareado $p < 0,001$	test-t pareado $p = 0,09$

(a) Valores promedios de los muestreos realizados en 2012, 2013, el experimento de 2014 (sin media sombra) y 2015.

Análisis de la comunidad de macroinvertebrados

Los ensambles de macroinvertebrados difirieron en ambos arroyos, en el arroyo Blanco se identificaron 11 taxones (Tabla V.5) en cambio, el arroyo Negro se caracterizó por sólo poseer un grupo taxonómico: la familia Chironomidae del orden Díptera. En el arroyo Blanco el orden Ephemeroptera dominó la comunidad de macroinvertebrados (47,3%), seguido por el orden Plecoptera (28,2%), Diptera (22,2%) y Trichoptera (2,23%). Tres familias estuvieron presentes a lo largo de todos los muestreos: Lephophlebiidae (Ephemeroptera), Gripopterygidae (Plecoptera) y Chironomidae (Diptera). La familia más abundante fue Lephophlebiidae, que estuvo representada por la especie *Meridialaris chiloeensis* (Demoulin) (Figura V.2 A, Peters y Edmunds (1972); Pescador y Peters (1986)) cuya abundancia varió entre 7,4% y 74,6% durante los diferentes muestreos, mientras que la abundancia promedio fue de (media \pm desviación estándar -DS-) 46,8 \pm 22,6%. La familia Gripopoterygidae fue la segunda más abundante con 28,4 \pm 15,4%, en la cual la especie más abundante fue *Notoperla magnaspina* (McLellan) (Figura V.2 B, McLellan *et al.* (2006)) cuya abundancia rondó entre 2,9% y el 87,6%, con un promedio de 27,3% \pm 28,7%. Por último la familia Chironomidae (Figura V.2 C, tuvo una abundancia de 15,3 \pm 13,2%.



Figura V.2: Invertebrados bentónicos más representativos del arroyo Blanco. A- *Meridialaris chiloeensis*, B- *Notoperla magnaspina*, C- Chironomidae.

Abundancia y diversidad de macroinvertebrados

La abundancia promedio de macroinvertebrados en el arroyo Blanco fue de 748 ± 148 individuos m^{-2} (entre 1052 y 544 ind. m^{-2}), 4,27 veces más que en el arroyo Negro que tuvo una abundancia promedio de 175 ± 54 ind. m^{-2} (entre 278 y 122 ind. m^{-2}). Las abundancias más bajas ocurrieron durante los muestreos de otoño, en ambos arroyos.

Para el análisis de la diversidad de taxones y grupos funcionales en el arroyo Blanco se construyeron 255 modelos ambientales en cada caso. Para la diversidad taxonómica fueron significativos 2 modelos (Tabla V.6), en el cual la variable temperatura del aire (T° aire) estuvo presente en los dos más probables, y siempre tuvo un efecto positivo. El modelo más probable sólo incluyó el promedio de la temperatura de los tres días anteriores al momento del muestreo. El segundo modelo más probable incorporó la variable precipitación (la suma de los tres días anteriores al muestreo), que afectó negativamente a la diversidad taxonómica y además tuvo la mitad del efecto que poseía la variable temperatura en el modelo 1 y 2.



Tabla V.5: Listado de los diferentes taxa de macroinvertebrados y grupo funcional alimentario (GFA) asignado a cada uno, registrados en el arroyo Blanco y en el mismo arroyo 2 m antes de la confluencia con el arroyo Negro.

Taxa	Grupo Funcional Alimentario (GFA)	Blanco	Union Blanco
		abundancia (%)	
Insecta			
Plecoptera			
Austroperlidae			
<i>Klapopteryx sp.</i>	Fragmentador	0,49	-
Gripopterygidae			
<i>Notoperla magnaspina</i>	Pastoreador	27,3	42,54
<i>Aubertoperla sp.</i>	Pastoreador	0,41	-
Eustheniidae			
<i>Neuroperla sp.</i>	Depredador	0,1	-
Ephemeroptera			
Leptophlebiidae			
<i>Meridialaris chiloeensis</i>	Pastoreador	46,76	33,87
Baetidae			
<i>Andesiops sp.</i>	Pastoreador	0,47	-
Trichoptera			
Hydrobiosidae			
<i>Cailloma sp.</i>	Depredador	2,23	-
Diptera			
Athericidae			
	Depredador	1,46	1,08
Blephariceridae			
	Pastoreador	1,14	0,98
Chironomidae			
	Colector Recolector	15,27	21,52
Simuliidae			
<i>Simulium sp.</i>	Colector Filtrador	4,36	-



La diversidad funcional fue explicada por 3 modelos ($\Delta AIC_C < 2$) y la variable temperatura fue nuevamente la más relevante y fue, asimismo, la única variable incluida en el modelo más probable (Tabla V.6). El segundo modelo estuvo constituido por las variables precipitación y contenido de C en el perifiton, la primera tuvo un efecto negativo, mientras que la segunda afectó positivamente la diversidad funcional. Por último, el tercer modelo incluyó las mismas variables que para la diversidad taxonómica: precipitación y temperatura. Ambos parámetros tuvieron un efecto similar, aunque sus efectos tuvieron signos opuestos.

Tabla V.6: Los mejores modelos ($\Delta AIC_C < 2$) para predecir la diversidad de macroinvertebrados (taxonómica y funcional) en el arroyo Blanco.

Diversidad Taxonómica	Variables en el modelo	Coef. Std	AIC _C	ΔAIC_C	w _i	K	r ²
<i>Modelo 1</i>	T° aire (3 días)	0,831	0,817	0	0,511	1	0,753
<i>Modelo 2</i>	Precip (3 días)	-0,476	1,272	0,455	0,152	2	0,873
	T° aire (3 días)	0,874					

Diversidad Funcional	Variables en el modelo	Coef. Std	AIC _C	ΔAIC_C	w _i	K	r ²
<i>Modelo 1</i>	T° aire (3 días)	0,741	5,478	0	0,217	1	0,651
<i>Modelo 2</i>	Precip (3 días)	-0,653	6,946	1,468	0,104	2	0,645
	contenido de C (perifiton)	0,427					
<i>Modelo 3</i>	Precip (3 días)	-0,643	7,401	1,923	0,083	2	0,642
	T° aire (3 días)	0,605					

Los términos de error también se incluyeron en todos los modelos. AIC, Criterio de Información de Akaike. k indica el número de parámetros. ΔAIC_C es la diferencia entre el valor AIC_C y el valor más bajo AIC_C. w_i es la probabilidad relativa de que el modelo es el mejor modelo de aproximación. r², coeficiente de determinación de una regresión lineal que involucre las variables del modelo.

En la Figura V.3 se muestra la relación existente entre la temperatura ambiente, la precipitación, la diversidad taxonómica y la diversidad funcional. Básicamente la temperatura y la diversidad taxonómica (regresión lineal, $r^2 = 0,75$; N = 12, $p < 0.001$) y funcional (regresión lineal, $r^2 = 0,65$; N = 12, $p < 0.001$) tienen las mismas variaciones a lo largo de los diferentes muestreos. La mayor precipitación se corresponde con las marcadas disminuciones en la diversidad taxonómica y funcional, lo que se vincularía con el signo negativo del efecto calculado en los modelos (Tabla V.6). Cabe destacar además que en el arroyo Blanco la carga de sólidos en suspensión (ver Capítulo II) estuvo relacionada con la temperatura ambiente (*coeficiente estandarizado* $b' = 0,66$) y la precipitación ($b' = 0,35$).



Al analizar la diversidad funcional del arroyo Blanco (Figura V.4) se observó que los pastoreadores (promedio de 77,5 %) dominaron la comunidad, y las dos especies más abundantes fueron pastoreadoras: *N. magnaspina* y *M. chiloeensis*. La abundancia promedio de pastoreadores fue de 565 ind. por m², de los cuales el 65% pertenecían a *M. chiloeensis* mientras que el 33% eran *N. magnaspina*. El segundo grupo más abundante fue el de los colectores recolectores (15,27%) representado por la familia Chironomidae (promedio de 118 ind. m⁻²). El promedio de abundancia de colectores recolectores y que pertenecían a la familia Chironomidae fue similar al que se encontró en el arroyo Negro (175 ind m⁻²); donde sólo este grupo estuvo presente.

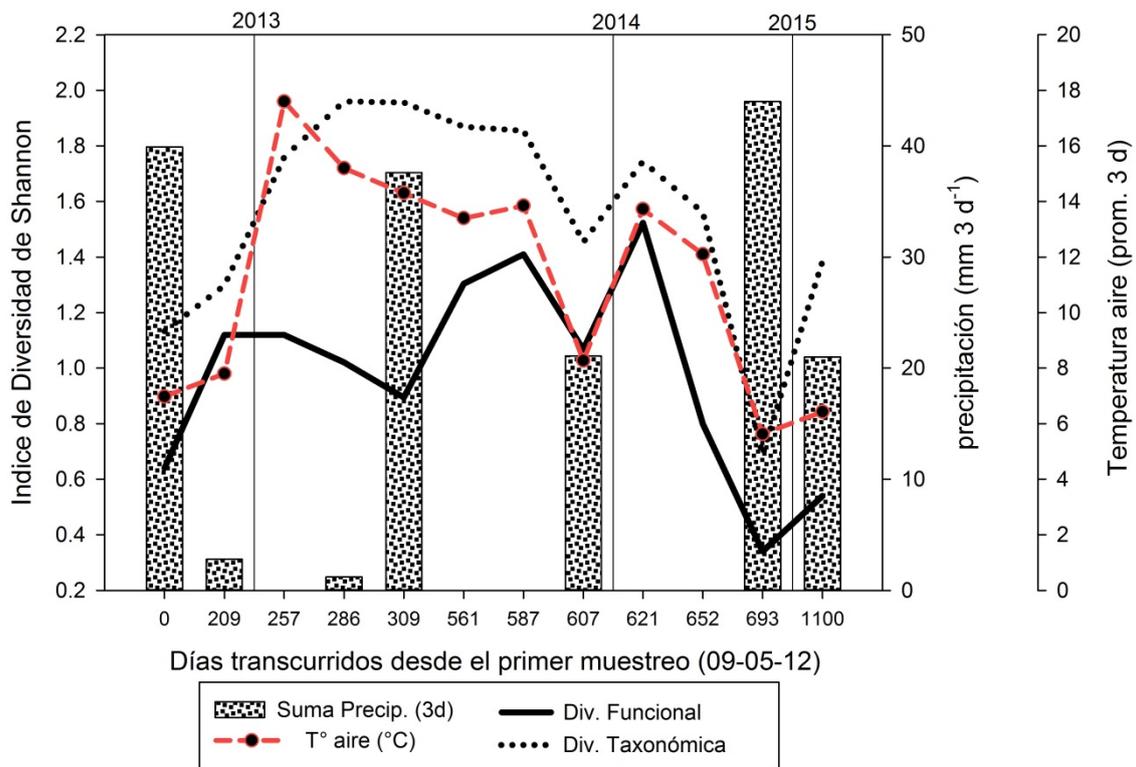


Figura V.3: Valores del índice de diversidad de Shannon calculado para la diversidad taxonómica y funcional durante los muestreos. Valores de precipitación y Temperatura registrados 3 días antes del muestreo. Además de los muestreos rutinarios (I – VII) se agregaron los datos relevados durante el experimento (fuera de la media sombra, EXP 0-4). Muestreos en Primavera: II, EXP 0; Verano: III-VI, EXP 1-3; y Otoño: I, VII, EXP 4.

Los pastoreadores en el arroyo Blanco tuvieron una alta abundancia a lo largo de las diferentes estaciones del año. Debido a esto, se analizaron pormenorizadamente las variaciones de las dos especies más abundantes (*N. magnaspina* y *M. chiloeensis*). Los modelos logrados a través del GLMM, permitieron analizar las variaciones existentes en la abundancia de los pastoreadores, utilizando un total de 11 variables, dentro de las cuales fue incluida la temporada como una variable categórica.

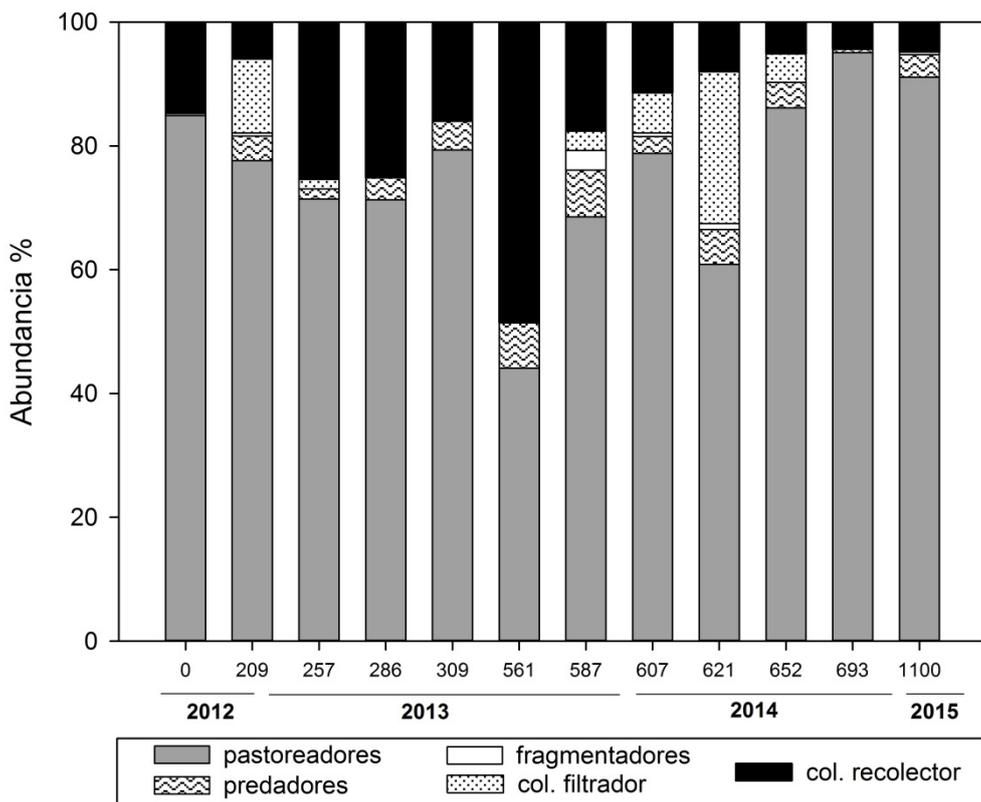


Figura V.4: Abundancias de los diferentes grupos funcionales que estuvieron representados a lo largo de los muestreos realizados en el arroyo Blanco. GFA que estuvieron bajo el 1% y dificulta su visualización: I (Frag 0,35%), II (Frag 0,49%), EXP1 (Frag 0,54%), EXP2 (Frag 0,94%), EXP4 (Pred 0,62%), y VII (Frag 0,4%). Muestreos en Primavera: II, EXP 0; Verano: III-VI, EXP 1-3; y Otoño: I, VII, EXP 4.

Tabla V.7: Los mejores modelos ($\Delta AIC < 2$) para predecir la abundancia del pastoreador *M. chiloeensis* en el arroyo Blanco.

Abundancia <i>M. chiloeensis</i>	VARIABLES en el modelo	Coef. Std	AICc	ΔAIC	wi	K	r ²
<i>Modelo 1</i>	% diatomeas erectas	0,748	116,854	0	0,234	2	0,82
	Precip (3 días)	-0,301					
<i>Modelo 2</i>	% diatomeas erectas	0,720	117,367	0,513	0,181	3	0,78
	Precip (3 días)	-0,351					
	T° aire (3 días)	0,195					

Los términos de error también se incluyeron en todos los modelos. AIC, Criterio de Información de Akaike. k indica el número de parámetros. ΔAIC_C es la diferencia entre el valor AIC_C y el valor más bajo AIC_C . w_i es la probabilidad relativa de que el modelo es el mejor modelo de aproximación. r^2 , coeficiente de determinación de una regresión lineal que involucre las variables del modelo.



De los modelos elaborados para explicar la abundancia de *M. chiloeensis* sólo 2 modelos tuvieron un $\Delta AIC < 2$ (Tabla V.7). El modelo con mayor peso fue aquel en donde la abundancia de diatomeas erectas (basada en biovolúmenes) tuvo un efecto positivo sobre la abundancia de *M. chiloeensis* y en concordancia a lo sucedido en el análisis de la diversidad, la precipitación afectó negativamente la abundancia de este pastoreador. En el segundo modelo, las diatomeas erectas tuvieron un efecto similar al primero, al igual que la precipitación. Por su parte, la temperatura ambiental también afectó positivamente la abundancia de *M. chiloeensis*, aunque con un efecto menor que las otras variables.

El análisis de la abundancia de *N. magnaspina* mostró 3 modelos probables. El más probable estuvo conformado por dos variables (Tabla V.8). La primer variable que afectó positivamente la abundancia de *N. magnaspina* fue la abundancia de diatomeas postradas (basada en biovolúmenes), y al igual que lo analizado para la abundancia de *M. chiloeensis*, la precipitación tuvo un efecto negativo.

El segundo modelo estuvo conformado por las variables del primer modelo (diatomeas postradas y precipitaciones) con cambios en la magnitud de los efectos, y además incluyendo a la temperatura, con un efecto positivo, pero 5 veces menor que el efecto de las dos variables del primer modelo. Por último el tercer modelo probable incluyó la variable concentración de sólidos totales en suspensión que afectó negativamente la presencia de *N. magnaspina*. Asimismo en este tercer modelo la presencia de otros pastoreadores afectó negativamente la abundancia de *N. magnaspina*, y el efecto tuvo la misma magnitud y signo que la otra variable del modelo.

Tabla V.8: Los mejores modelos ($\Delta AIC < 2$) para predecir la abundancia del pastoreador *N. magnaspina* en el arroyo Blanco.

Abundancia <i>N. magnaspina</i>	VARIABLES en el modelo	Coef. Std	AICc	ΔAIC	wi	K	r ²
<i>Modelo 1</i>	% diatomeas postradas	0,654	127,067	0	0,397	2	0,79
	Precip (3 días)	-0,428					
<i>Modelo 2</i>	% diatomeas postradas	0,486	127,697	0,629	0,091	3	0,67
	T° aire (3 días)	0,105					
	Precip (3 días)	-0,523					
<i>Modelo 3</i>	Sólidos Totales en Suspensión	-0,429	127,843	0,775	0,084	2	0,65
	Ab. Otros pastoreadores	-0,426					



Estequiometría de los Macroinvertebrados

Comparación arroyos Blanco y Negro

El único grupo de macroinvertebrados en común entre el arroyo Blanco y Negro fue el de la familia Chironomidae. Como se observa en la Tabla V.9, no existieron diferencias significativas entre el contenido de N (prueba-t pareada, g.l. = 8, $p = 0,13$) ni en el contenido de P (prueba-t pareada, g.l. = 8, $p = 0,28$) de quironómidos de ambos arroyos. Sin embargo, las diferencias en el contenido de C fueron significativamente más altas en el arroyo Negro (prueba-t pareada, g.l. = 8, $p = 0,009$). No obstante esta diferencia no fue observada en la relación C:P (prueba-t pareada, g.l. = 8, $p = 0,14$), en la relación C:N (prueba-t pareada, g.l. = 8, $p = 0,42$), ni en relación N:P (prueba-t pareada, g.l. = 8, $p = 0,221$). Las diferencias en el contenido de C pueden ser atribuibles a la mayor disponibilidad de C en el perifiton que existe en el arroyo Negro (Tabla V.4). Sin embargo, cuando se analizó el coeficiente de variación (CV) del C de los quironómidos en el arroyo Blanco, la variabilidad en este grupo (1,78%) fue muy superior a la del Negro (4,7%), mientras que las variaciones entre arroyos en el contenido de N y P, no mostraron diferencias (N = 17,9 y 18,7%, P = 4,78 y 3,63%, arroyos Blanco y Negro respectivamente).

Estequiometría en macroinvertebrados del arroyo Blanco

El contenido de C, N y P de los macroinvertebrados bentónicos del arroyo Blanco, varió considerablemente entre los diferentes grupos y entre las especies (Tabla V.9). El contenido de C varió entre 42,87% y 59,57%, siendo el menor contenido para el grupo de colectores recolectores (Chironomidae), mientras que el más alto fue para el depredador del género *Cailloma* (Tricoptera). En cuanto al contenido de N, fue menor para los colectores recolectores (5,63%) y máximo para los depredadores *Cailloma* sp. (10,12%), *Neuroperla* sp (15,9%) y para el fragmentador del género *Klapoptheryx* (10,16%). El contenido de P fue más bajo para el pastoreador *M. chiloeensis* (0,68%), mientras que el más alto fue para el depredador *Neuroperla* (1,20%).

El contenido corporal de C de todos los macroinvertebrados a lo largo de todos los muestreos, tuvo un CV de 16,8%, comparado con 13,1% del P y 21,8% para el N. Las relaciones molares C:P, N:P, y C:N también variaron ampliamente (Figura V.5). La relación C:P (Figura V.5 A) promedio de los pastoreadores (173,7) fue más baja que el C:P del perifiton (188,8; Tabla V.5); y la DS del C:P del perifiton (79,8) fue 9,2 veces mayor que la de los pastoreadores (8,7). Además la relación C:N y N:P (Figura V.5 B y



C) fueron más bajas en los pastoreadores (6,8 y 24,1; respectivamente) que en el perifiton (14,8 y 29,6). Al igual que el C:P la dispersión de los balances C:N y N:P (DS = 1,27 y 2,37) de los macroinvertebrados fue más baja que la del perifiton (7,3 y 16,8).

Tabla V.9: Composición elemental promedio de los invertebrados de todos los muestreos realizados. En gris el grupo presente en el arroyo Negro. Concentraciones de carbono (C), Nitrógeno (N) y fósforo (P) con respecto al peso seco del organismo. Relaciones molares con respecto a las concentraciones de C, N y P. Promedio (\pm DS).

Taxon	C	N	P
GFA	% peso seco		
Chironomidae Col. Rec.	47,80 \pm 0,85	5,26 \pm 0,53	0,80 \pm 0,05
Chironomidae Col. Rec.	42,87 \pm 2,02	5,63 \pm 0,61	0,78 \pm 0,04
<i>Simulium</i> sp. Col. Filtr.	49,32 \pm 4,30	9,73 \pm 1,14	1,04 \pm 0,16
<i>M. chiloeensis</i> Past.	49,52 \pm 10,54	8,59 \pm 1,68	0,68 \pm 0,06
<i>N. magnaspina</i> Past.	49,42 \pm 3,53	8,44 \pm 0,93	0,77 \pm 0,12
<i>Antarctoperla</i> sp. Past.	48,02 \pm 2,31	8,41 \pm 1,03	0,77 \pm 0,15
<i>Edwardsina</i> sp. Past.	49,60 \pm 9,81	8,78 \pm 1,39	0,80 \pm 0,11
<i>Baetis</i> sp. Past.	48,66 \pm 2,31	8,82 \pm 1,13	0,82 \pm 0,10
<i>Cailloma</i> sp. Pred.	47,83 \pm 5,66	10,12 \pm 1,29	0,83 \pm 0,02
<i>Dasyomma</i> sp. Pred.	50,79 \pm 7,99	9,23 \pm 1,16	0,87 \pm 0,07
<i>Neuroperla</i> sp. Pred.	53,68 \pm 4,2	15,9 \pm 1,17	1,20 \pm 0,21
<i>Klapopteryx</i> sp. Frag.	56,77 \pm 7,36	10,16 \pm 2,14	0,93 \pm 0,14

Grupo funcional alimentario (GFA) asignado a cada taxa de macroinvertebrados. Frag.: Fragmentador; Past.: Pastoreador; Pred.: Depredador; Col. Fil.: Colector Filtrador; Col. Rec.: Colector Recolector.

Esto implica una mayor concentración de N y P en los invertebrados y menor variabilidad, con respecto al perifiton. Por otro lado, el CV del grupo de los depredadores fue de 10,8% para el C, 35% para el N y 19% para el P. Del mismo modo que la relación perifiton-pastoreadores, los depredadores tuvieron un C:N:P (C:P = 149,2; C:N = 6,0 y N:P = 23,7) más bajo que sus posibles presas (pastoreadores y recolectores, C:P = 171,5; C:N = 7,4 y N:P = 24,0).

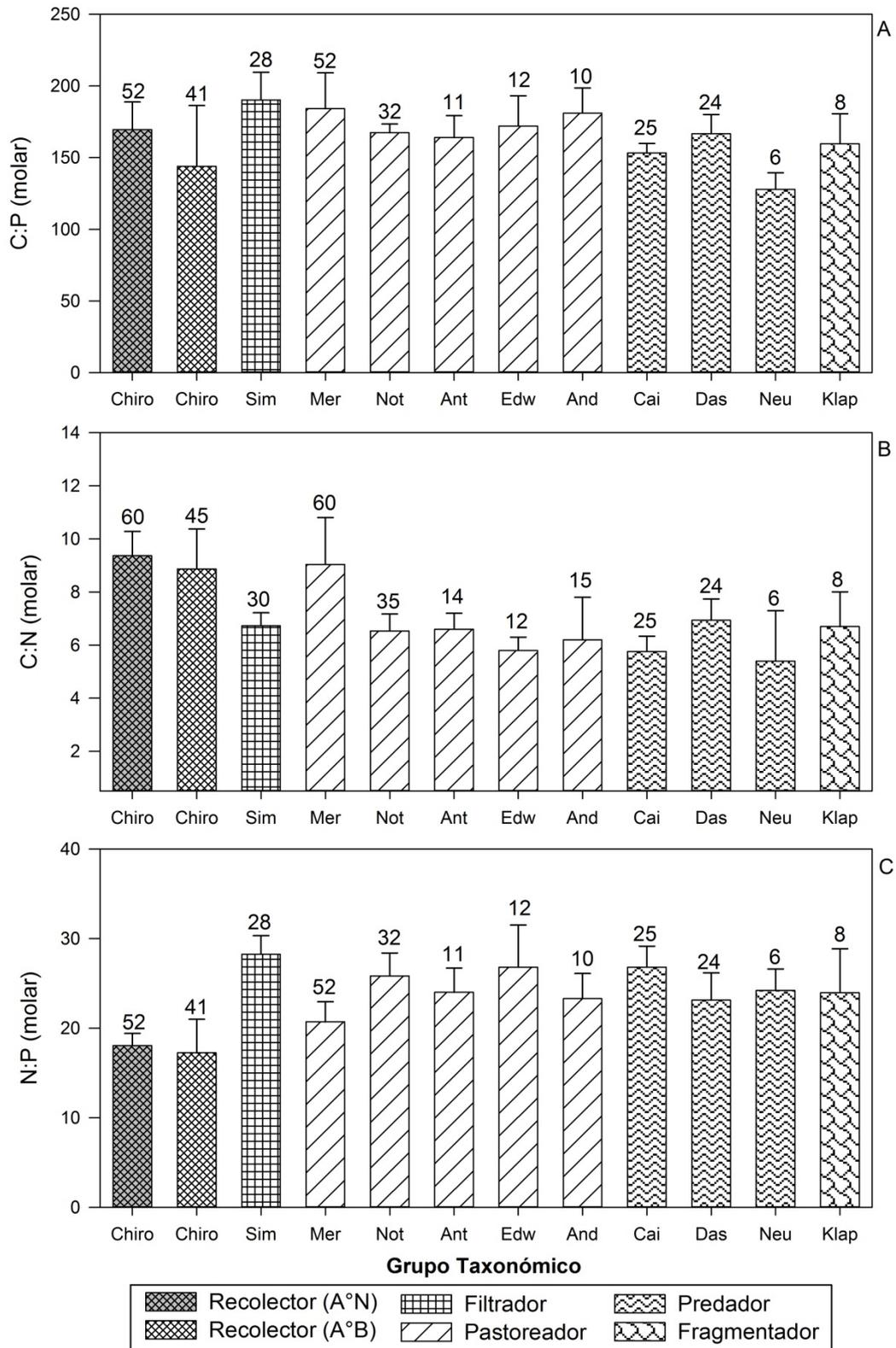


Figura V.5: Promedio (\pm DS) de las relaciones elementales molares C:P (A), C:N (B), and N:P (C) de los taxa de macroinvertebrados de los arroyos Blanco y Negro. Los números sobre las barras de error indican el número utilizado para calcular cada uno de ellos. Chiro = Chironomidae, Sim = Simulido, Mer = Meridialaris, Not = Notoperla, Ant = Antartoperla, Edw = Edwardsina, Bae = Baetis, Cai = Cailloma, Das = Dasyomma, Neu = Neuoperla, Klap = Klapopteryx.



Estequiometría de los pastoreadores

En el arroyo Blanco estuvieron presentes 6 pastoreadores diferentes, pero sólo 2 dominaron el ensamble: *M. chiloeensis* y *N. magnaspina* (Tabla V.5). Por ello se analizó pormenorizadamente la variabilidad estequiométrica de estos dos pastoreadores frente a las relaciones C:N:P del perifiton.

La relación C:P de *N. magnaspina* fue más baja que *M. chiloeensis* (Figura V.5 A) y también tuvo una menor variabilidad (medida como la DS). Esto se observa en la Figura V.6 donde tanto la relación C:P como C:N de *N. magnaspina* permanecen casi invariables. Mientras que el balance de nutrientes de *M. chiloeensis* se vio más afectado

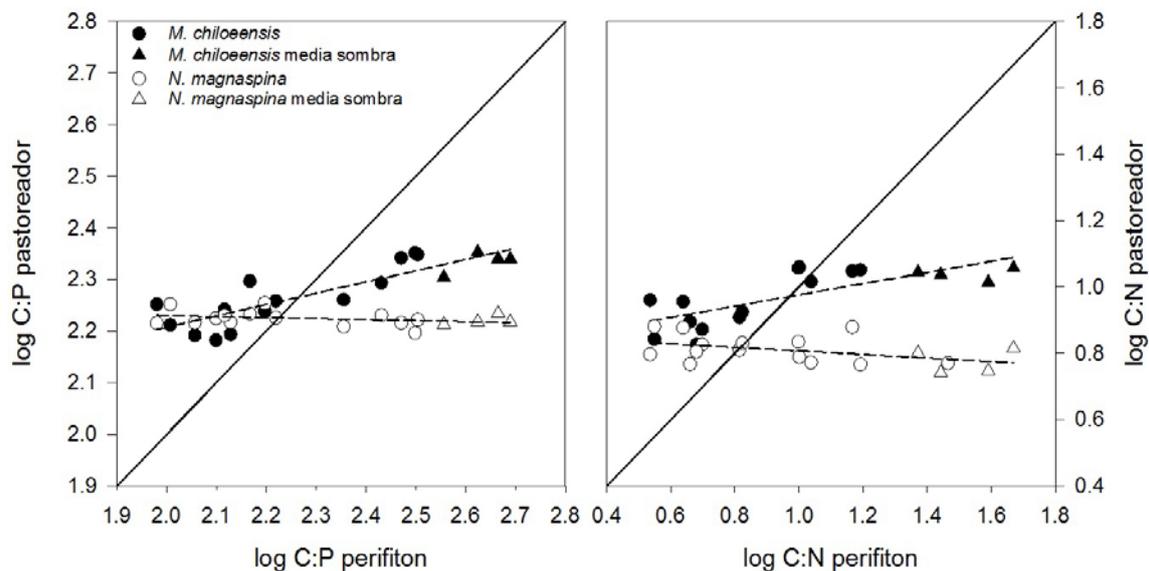


Figura V.6: Regulación homeostática del contenido elemental en los pastoreadores *M. chiloeensis* y *N. magnaspina*. Los datos de los muestreos y experimentales fuera de la media sombra están representados por círculos; y por triángulos los experimentales bajo media sombra. La línea sólida es no homeostasis, “eres lo que comes”.

por la estequiometría de sus recursos. Sin embargo, ambos pastoreadores son homeostáticos, es decir controlan de manera activa su relación elemental más allá de la estequiometría de sus recursos. Una homeostasis estricta tendría una pendiente de ~ 0 mientras que la no homeostasis sería de 1. En el caso de la relación C:P, la pendiente de la regresión lineal de *M. chiloeensis* es 0,22 ($r^2 = 0,75$; g.l. = 17, $p = 0,001$), mientras que la de *N. magnaspina* es -0,06 ($r^2 = 0,11$; g.l. = 17, $p < 0,001$). En ambos casos existe una regulación homeostática del contenido elemental, sin embargo, *N. magnaspina* es más estricto en sus niveles C:P que *M. chiloeensis*. Lo mismo ocurre en el caso de la relación C:N, donde *N. magnaspina* (pendiente: -0,05; $r^2 = 0,21$; g.l. = 17, $p = 0,001$) es más estricto en la regulación que la que lleva a cabo *M. chiloeensis* (pendiente: 0,17; $r^2 = 0,58$; g.l. = 16, $p = 0,005$).



Ambos pastoreadores utilizan el perifiton como recurso alimenticio, cuya estequiometría está sujeta principalmente a la disponibilidad de luz (capítulos III y IV). Por lo tanto se analizaron los desbalances de estos pastoreadores (C:P y C:N) en función de la disponibilidad lumínica (Figura V.7). En este análisis se observó que el desbalance tiene una relación inversa con la disponibilidad lumínica (desbalance C:P *N. magnaspina*: regresión lineal, pendiente -0.0003, $r^2 = 0.63$, 17 g.l., $p < 0.001$; desbalance C:P *M. chiloensis*: regresión lineal, pendiente -0.0002, $r^2 = 0.69$, 17 g.l., $p < 0.001$). El punto de inflexión en los desbalances es alrededor de los $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El exceso de luz (mayor de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) conduce a que los productores primarios sean un recurso más balanceado en términos elementales (más rico en N y P, ver capítulos III y IV). Asimismo los desbalances en C:N fueron más amplios que en el caso del C:P, para ambos pastoreadores.

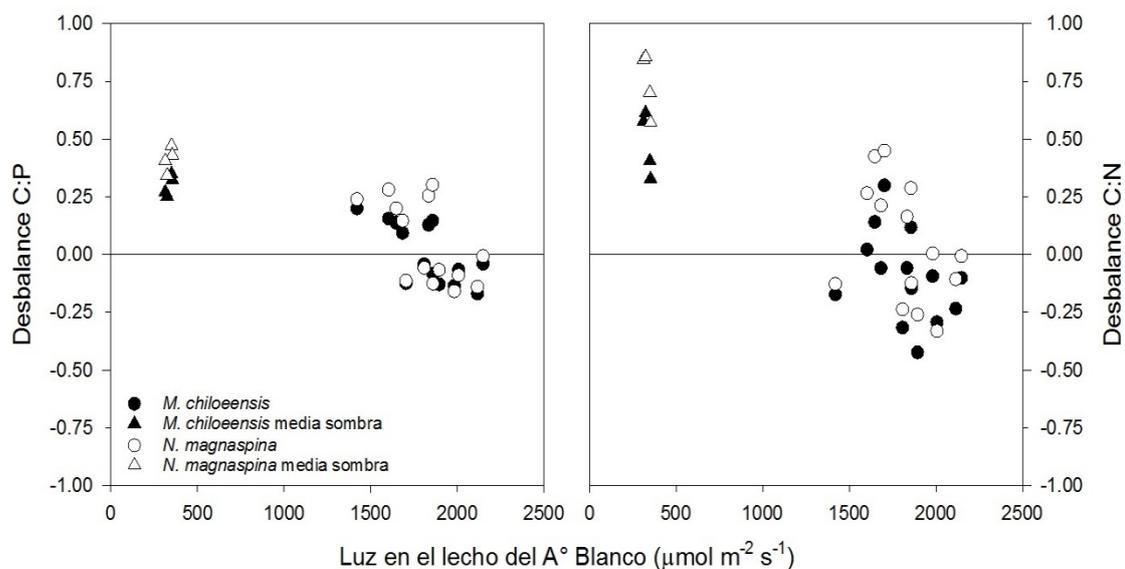


Figura V.7: Desbalance elemental entre los consumidores y su alimento en función de la disponibilidad lumínica en el lecho del arroyo Blanco. Iguales referencias que la Figura V.6.



Estequiometría de los depredadores

Con el fin de analizar la variabilidad estequiométrica de los depredadores del arroyo Blanco, se utilizaron las relaciones estequiométricas de las tres presas más abundantes, y por lo tanto más probables de ser ingeridas: Chironomidae (C), *M. chiloeensis* (M) y *N. magnaspina* (N). Estos tres grupos en promedio sumaron el $89,5 \pm 8,5\%$ del total de los macroinvertebrados. La relación estequiométrica (C:P y C:N) de la presa para cada muestreo fue la suma de la abundancia relativa (Ab) de cada grupo multiplicada por la relación estequiométrica que presentó en dicho muestreo:

$$Presa \frac{C:P}{C:N} = \left(\frac{C:P}{C:N} C * Ab_C \right) + \left(\frac{C:P}{C:N} M * Ab_M \right) + \left(\frac{C:P}{C:N} N * Ab_N \right)$$

Se analizó el balance de nutrientes de los depredadores más abundantes (Tabla V.5): *Cailloma* (tricoptero) y *Dasyomma* (díptero). *Cailloma* tuvo menor contenido de C corporal (Tabla V.9) que *Dasyomma*, consecuentemente tuvo mayor contenido de P y N (Tabla V.9). Esto se tradujo en una relación C:P y C:N más bajas y en una relación N:P más alta (Figura V.5). En cuanto a la regulación homeostática (Figura V.8) del C:P, ambos depredadores tuvieron una pendiente de 0,15, lo que es una regulación bastante importante del balance de nutrientes. Sin embargo, sólo fue significativa la regulación de *Cailloma* ($r^2 = 0,39$; g.l. = 14, $p = 0,02$), mientras que no lo fue la de *Dasyomma* ($r^2 = 0,12$; g.l. = 11, $p = 0,28$), que presentó una mayor dispersión de valores. La regulación

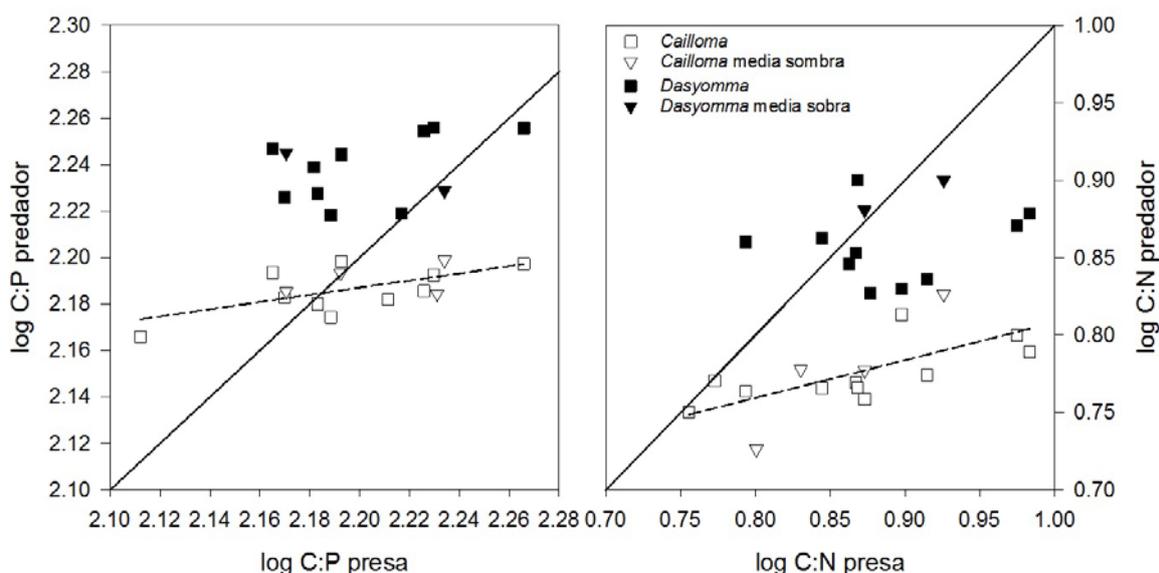


Figura V.8: Regulación homeostática del contenido elemental en los depredadores *Cailloma* y *Dasyomma* y del promedio de las tres presas. Los datos de los muestreos y experimentales fuera de la media sombra están representados por cuadrados; y por triángulos los experimentales bajo media sombra.



homeostática de *Cailloma* para la relación C:N fue significativa ($r^2 = 0,45$; g.l. = 14, $p = 0,006$) y su pendiente fue de 0,24; mientras que *Dasyomma* tuvo una correlación mucho más baja ($r^2 = 0,04$; g.l. = 11, $p = 0,54$), con una dispersión de datos mayor que lo observado para el C:P.

Experimento de campo con dos tratamientos lumínicos

Macroinvertebrados

Durante el experimento, la comunidad de macroinvertebrados no mostró diferencias significativas en cuanto a las especies que la componían (ANOVA de 2 vías, $p = 0,39$) o a los grupos funcionales (ANOVA de 2 vías, $p = 0,88$), entre los dos tratamientos de luz (Figura V.10). La abundancia de macroinvertebrados (696 ± 79 ind. m^{-2}) y pastoreadores (606 ± 207 ind. m^{-2}) fue mayor fuera de la media sombra que dentro de ella (558 ± 64 macroinvertebrados m^{-2} y 472 ± 79 pastoreadores m^{-2}), sin embargo estas diferencias no fueron significativas para la abundancia de macroinvertebrados (ANOVA de dos vías, $p = 0,33$), ni para la abundancia de

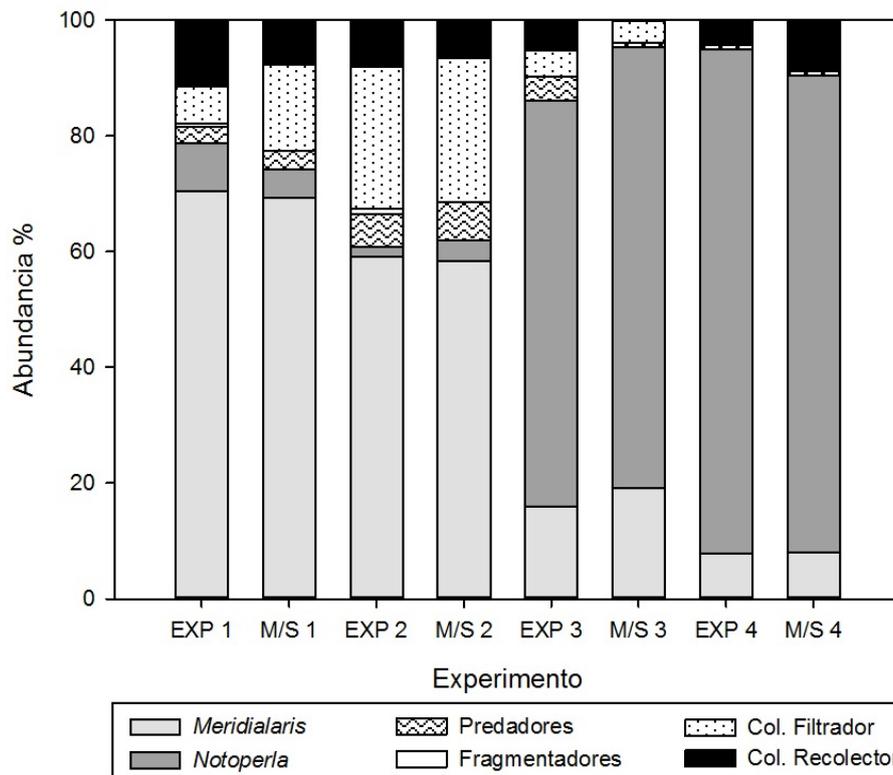


Figura V.9: Abundancias de los diferentes grupos funcionales que estuvieron representados en el experimento, sin media sombra (EXP) y con media sombra (M/S), en los diferentes muestreos: 06-Ene (1), 20-Ene (2), 20-Feb (3) y 02-Abr (4). GFA que estuvieron bajo el 1% y dificultad su visualización: EXP1 (Frag 0,54%), EXP2 (Frag 0,94%), M/S3 (Pred 0,78%), EXP4 (Pred 0,62%), y M/S4 (Frag 0,79%).
Muestreos en Primavera: EXP 0; Verano: EXP 1-3; y Otoño: EXP 4.



pastoreadores (ANOVA de dos vías, $p = 0,29$). Durante los dos primeros muestreos la comunidad de macroinvertebrados (en ambos tratamientos) estuvo dominada por el pastoreador *Meridialaris* y los dos últimos muestreos por *Notoperla* (Figura V.9). Las abundancias de ambos pastoreadores no difirieron entre tratamientos (ANOVA de dos vías, $p = 0,36$ y $p = 0,25$, *M. chiloeensis* y *N. magnaspina* respectivamente) a lo largo del experimento.

Como se observó en el análisis pormenorizado de la estequiometría de los pastoreadores (ver triángulos en Figura V.6 y V.7), existieron diferencias en el contenido de nutrientes y en el balance C:N y C:P. *M. chiloeensis* mostró diferencias entre tratamientos en el contenido de C (ANOVA de dos vías, $p = 0,02$), aunque el contenido de N (ANOVA de dos vías, $p = 0,58$) y P (ANOVA de dos vías, $p = 0,42$) no mostraron variaciones. Esta diferencia afectó significativamente a las relaciones C:N (ANOVA de dos vías, $p = 0,02$) y C:P (ANOVA de dos vías, $p = 0,03$) entre los tratamientos (Figura V.11), debido a una mayor concentración de C y mayores relaciones C:N y C:P en el tratamiento con media sombra. Por el contrario, *N. magnaspina* no tuvo diferencias significativas en el contenido de C (ANOVA de dos vías, $p = 0,14$), N (ANOVA de dos vías, $p = 0,31$) ni P (ANOVA de dos vías, $p = 0,63$) y, por lo tanto, en la relación C:N (ANOVA de dos vías, $p = 0,36$) y C:P (ANOVA de dos vías, $p = 0,68$) (Figura V.10). Esto pone de manifiesto el carácter homeostático más estricto de *N. magnaspina*, observado previamente.

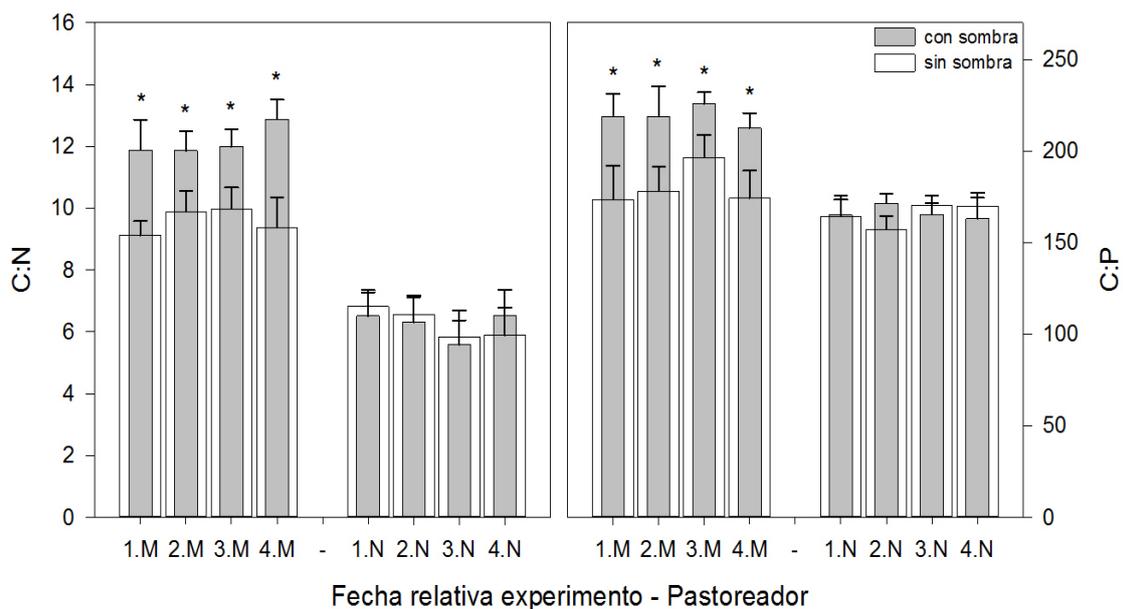


Figura V.10: Variaciones en los promedios (\pm DS) de las relaciones C:N y C:P de los pastoreadores *Meridialaris* (M) y *Notoperla* (N) en los diferentes muestreos del experimento: 06-Ene (1), 20-Ene (2), 20-Feb (3) y 02-Abr (4). Las diferencias significativas (*) de prueba de Tukey *a posteriori* bajo $p < 0,05$.



Sustratos artificiales para el análisis del perifiton

Las relaciones elementales del perifiton sobre los cerámicos (Tabla V.2) como la concentración de Cl-*a* variaron a lo largo del experimento. Estos cambios resultaron evidentes en las relaciones C:N, C:P, C:Cl-*a* (Tabla V.10) y N:P. El contenido de N y P del perifiton varió a lo largo del experimento (ANOVA de 3 vías; contenido de N, $p = 0,006$; contenido de P, $p < 0,001$) independientemente de las situaciones lumínicas y de exposición al pastoreo experimentales (Tabla V.10). Asimismo, la relación N:P varió a lo largo del experimento (ANOVA de 3 vías, $p < 0,001$).

Contrariamente, las concentraciones de C y clorofila mostraron diferencias significativas para los dos factores analizados (luz y herbivoría). Se observó mayor concentración de C y clorofila bajo el tratamiento de menor luz (con malla neutra). Además fue mayor la concentración de ambos cuando la cerámica estuvo elevada del lecho del arroyo excluyendo el efecto del pastoreo que cuando estuvo sobre el lecho del arroyo. Sin embargo, los efectos del pastoreo y de la luz deben interpretarse conjuntamente debido a que su efecto depende del nivel del otro factor (Interacciones en Tabla V.10). El efecto del pastoreo (excluido o no) depende del nivel de luz (Figura V.11). La pérdida de Cl-*a* a causa del pastoreo fuera de la media sombra fue de 45% contra el 49,3% bajo media sombra. Asimismo la pérdida de C por pastoreo fuera de la media sombra fue del 45,3%, mientras que bajo la media sombra la pérdida fue de 51,1%. Por último, la disminución en la relación C:Cl-*a* fue mayor dentro de la media sombra (43,5%) que fuera de la misma (38%).

Tabla V.10: Resultados del ANOVA de tres vías (tiempo, sombra y posición) sobre el contenido de clorofila, de C, y las relaciones C:P, C:N y C:Cl-*a*. Todas las variables fueron transformadas utilizando la función logaritmo.

Efecto	g.l.	Clorofila <i>a</i>		contenido de C		C:P		C:N		C:Chl- <i>a</i>	
		<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
tiempo (T)	3,64	221,9	<0,001	45,8	<0,001	142,9	<0,001	162,2	<0,001	6,6	0,001
sombra (S)	1,64	171,9	<0,001	42,7	<0,001	99,0	<0,001	117,6	<0,001	14,4	<0,001
posicion (P)	1,64	317,9	<0,001	23,2	<0,001	43,6	<0,001	40,4	<0,001	12,9	0,001
TxP	3,64	1,9	0,2	1,2	0,3	1,5	0,2	2,6	0,07	1,5	0,2
TxS	3,64	36,2	<0,001	4,8	0,03	4,1	0,01	7,2	<0,001	2,0	0,1
PxS	1,64	3,8	0,01	3,9	0,01	3,1	0,08	0,6	0,4	5,1	0,03
TxSxP	3,64	1,1	0,4	1,2	0,3	7,3	<0,001	0,5	0,6	0,4	0,7

negrita : *p* no significativo



La diferencia encontrada en el contenido de C entre los diferentes tratamientos (Figura V.11 B) modificó la relación C:P (Figura V.12 C) y C:N (Figura V.11 D) del perifiton. Las mayores relaciones se observaron en los tratamientos bajo sombra (a causa del mayor contenido de C) y sin pastoreo (Figura V.11). Sin embargo estas diferencias no fueron significativas. La relación C:Cl-*a* fue menor en ausencia de herbivoría (Figura V.11 E), es decir este perifiton tenía una mayor proporción de Cl-*a* por unidad de C, lo que sugiere que los pastoreadores estarían alimentándose principalmente de la parte viva del perifiton. Esto concuerda y es consistente con los resultados de abundancia ya expuestos donde ambos pastoreadores responden a la abundancia algal. El pastoreo causó la disminución en el contenido de C y Cl-*a*, y esta disminución fue mayor cuando las cerámicas se encontraban bajo la media sombra.

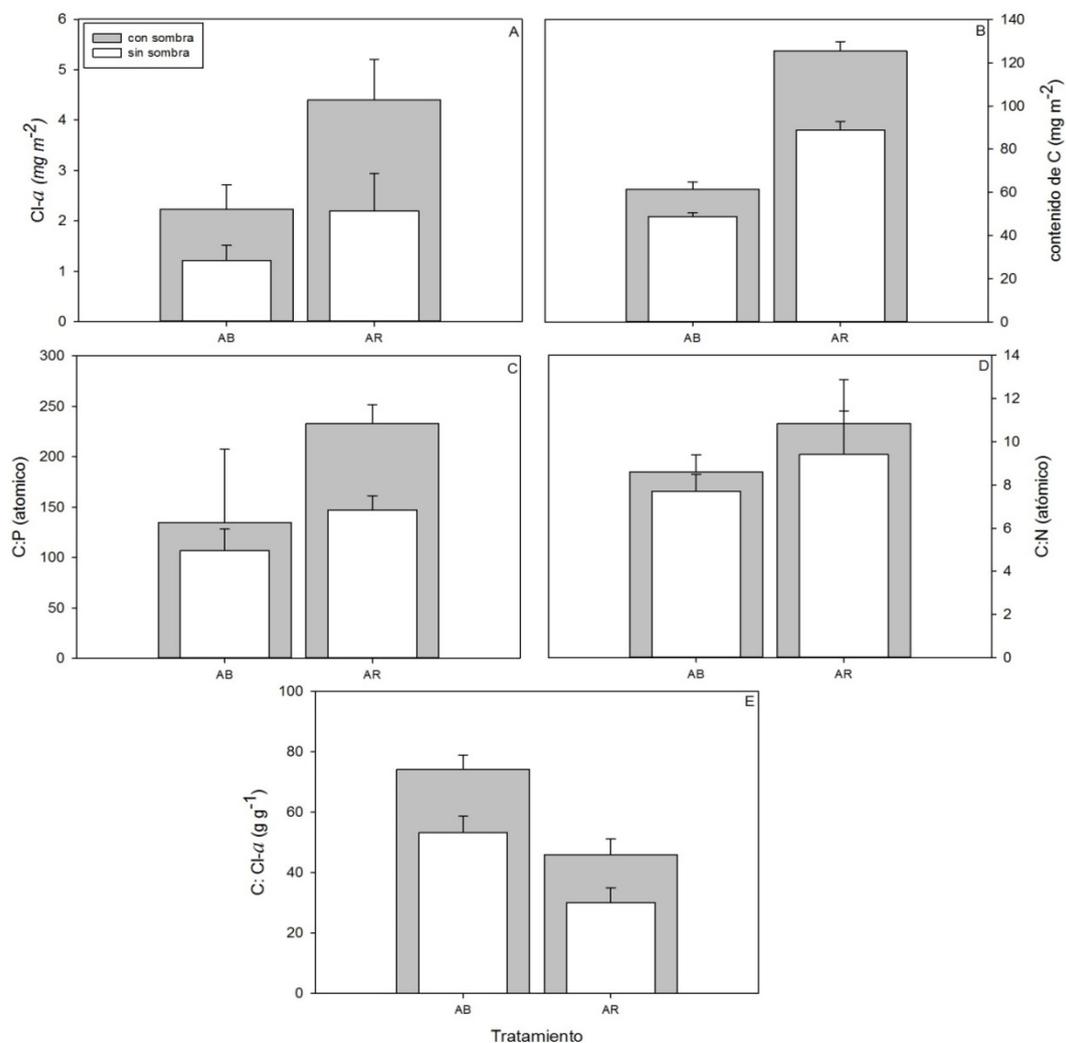


Figura V.11: Promedio (\pm DS) del contenido de C (A), clorofila (B), y de las relaciones C:P (C), C:N (D) y C: Cl-*a* (E), de las cerámicas en los tratamientos de herbivoría: con pastoreo (AB) y sin pastoreo (AR); bajo diferentes tratamientos de luz (con y sin sombra).



Discusión

Caracterización del ensamble de Macroinvertebrados

Los patrones de diversidad de macroinvertebrados en arroyos en cuencas con glaciares fue intensamente estudiado en las regiones templadas de Europa (por ejemplo los volúmenes especiales de *Freshwater Biology* (por ejemplo, Castella *et al.* (2001); Lods-Crozet *et al.* (2001); Milner *et al.* (2001a)) e *Hydrobiologia* (por ejemplo, Cantonati *et al.* (2006); Füreder *et al.* (2006); Ilg y Castella (2006); Rott *et al.* (2006a)); en la región tropical de Sudamérica (Jacobsen, 2003; Jacobsen *et al.*, 2010; Cauvy-Fraunié *et al.*, 2013; Jacobsen *et al.*, 2014b; Cauvy-Fraunie *et al.*, 2015), y en los Himalaya (Hamerlík y Jacobsen, 2012; Murakami *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2013; Laursen *et al.*, 2015). Sin embargo los registros de estudios de la diversidad de macroinvertebrados en los ambientes glaciares de los Andes Patagónicos son muy escasos (Wais y Bonetto, 1988; Miserendino y Pizzolon, 2000; Miserendino, 2001; Tagliaferro *et al.*, 2013). En particular, en glaciares patagónicos vinculados al lago Argentino se ha descrito a una nueva especie de plecóptero *Andiperla willinki* (Aubert, 1956) lo que sugiere una fauna particular vinculada a estos ambientes.

La región patagónica andina (~41°S) estuvo y está sujeta a cambios ambientales que se traducen en una recesión glaciar y en otros cambios hidroclimáticos (Rabassa *et al.*, 1980; Leiva, 1999; Masiokas *et al.*, 2009). El aumento del derretimiento glaciar incrementa el ingreso de arcilla a los cuerpos de agua, modificando física y químicamente el ambiente. Esta modificación afecta en primer lugar a los productores primarios que forman parte del perifiton, pero también afecta a los macroinvertebrados que viven en el bentos. La cantidad de arcilla, su variabilidad temporal, y la temperatura del agua marcan las principales diferencias entre los arroyos estudiados Blanco y Negro. La presencia de hielo del Ventisquero Negro en la naciente del arroyo Negro hace que reciba agua de deshielo muy fría (< 4°C) y con alto contenido de arcillas. La arcilla produce un fuerte efecto sobre los productores primarios del perifiton a través de su regulación de la disponibilidad lumínica (capítulos III y IV). En los Alpes se han descrito a ríos glaciares con características similares al Negro (Füreder *et al.*, 2001; Lods-Crozet *et al.*, 2001; Milner *et al.*, 2001a). Estos arroyos se caracterizan por tener picos estivales de descarga (Ward, 1994), temperaturas de verano que generalmente no exceden los 10°C, turbidez mayor a 30 NTU, conductividad menor a 50 $\mu\text{S cm}^{-1}$, y un lecho inestable (Milner y Petts, 1994). Esta fuerte herencia glaciar crea un ambiente hostil para los macroinvertebrados, en donde sólo ciertos grupos como la familia



Chironomidae, pueden sobrevivir; como se observó en el arroyo Negro. A medida que se incrementa la distancia al glaciar la temperatura aumenta, aumenta la estabilidad del lecho, disminuye la turbidez y se producen cambios significativos en la calidad del agua (Milner *et al.*, 2001a; Jacobsen, 2005; Ledger *et al.*, 2008). Esto crea un ambiente más propicio para los invertebrados del bentos, y usualmente se incrementa la diversidad (Milner y Petts, 1994; Milner *et al.*, 2001a; Snook y Milner, 2002; Finn *et al.*, 2010; Jacobsen *et al.*, 2010; Jacobsen y Dangles, 2012). Así la turbidez dada por el contenido de STS es identificada como uno de los predictores importantes de varios taxones de macroinvertebrados (Jiang *et al.*, 2013). Sin embargo, este gradiente hidrológico puede verse modificado según el momento de descarga, es decir que el gradiente podría moverse hacia arriba cuando el flujo es bajo (primavera e invierno) y hacia abajo cuando el caudal aumenta (verano y otoño) (Finn *et al.*, 2010).

Los cambios temporales en la magnitud y en la variabilidad del caudal del arroyo Blanco fueron notables. Este arroyo se vio fuertemente afectado por los cambios en el clima, en las precipitaciones y los patrones de variación del manto de nieve. Esto hizo que el arroyo Blanco tuviera un bajo promedio de turbidez y relativamente mayores temperaturas ($> 4^{\circ}\text{C}$). El glaciar Castaño Overo, puede exhibir una marcada variación temporal en su velocidad de flujo a causa de las precipitaciones (Ruiz *et al.*, 2015), lo que provocó cambios cuantitativos y cualitativos en el agua de deshielo hacia el arroyo Blanco. Estos cambios modifican la estabilidad del lecho lo que afectaría a la estructura del ensamble de macroinvertebrados (Milner y Petts, 1994) ya que los sistemas relativamente más estables poseen una mayor abundancia de macroinvertebrados (Milner *et al.*, 2001b; Hannah *et al.*, 2007). Los cambios súbitos del caudal disminuyen la estabilidad del lecho y provocan disturbios en la comunidad bentónica (Burgherr y Ward, 2001). Por su parte, el arroyo Negro presentó una variabilidad similar (DS) al arroyo Blanco (en características como turbidez, conductividad y oxígeno disuelto) aunque con mayores valores absolutos de turbidez. Sin embargo, la temperatura se observó mucho más estable (siempre baja) al igual que lo observado por Sertić Perić *et al.* (2015) en arroyos que son efluentes de lagos glaciares ya que éstos actúan como moderadores frente a la temperatura y las fluctuaciones hidrológicas (Hieber *et al.*, 2002; Maiolini *et al.*, 2006).

La diversidad taxonómica del arroyo Blanco se vio fuertemente influenciada por la temperatura del aire, que está directamente relacionada con la velocidad de fusión (Finn *et al.*, 2010; Paterson y Cuffney, 2010; Benn y Evans, 2014); y con la



precipitación, vinculada con la variación del caudal (Finn *et al.*, 2010). Por un lado, la temperatura impactó positivamente (aunque con cierta demora temporal) sobre la diversidad de macroinvertebrados debido a que puede afectar los patrones de emergencia, las tasas de crecimiento (Sweeney y Schnack, 1977), el metabolismo (Angelier, 2003), la reproducción (Vannote y Sweeney, 1980), y el tamaño corporal de los macroinvertebrados (Sweeney y Schnack, 1977). Asimismo, el incremento de turbidez se encontró relacionado con el aumento de temperatura en el arroyo Blanco. En cambio la precipitación, aumentó súbitamente la escorrentía hacia el arroyo, aumentando el caudal y la turbidez. Las grandes precipitaciones pueden producir disturbios o incluso fenómenos catastróficos, que reducen la abundancia de macroinvertebrados (Jacobsen *et al.*, 2014a), y esto produce cambios en la estructura de la comunidad del bentos (Dangles *et al.*, 2011), disminuyendo la diversidad taxonómica de macroinvertebrados, como se observó en el arroyo Blanco.

Diversos estudios han mostrado que los quironómidos se encuentran ampliamente distribuidos en los arroyos glaciares y generalmente son el grupo dominante (Burgherr, 2000; Burgherr y Ward, 2001; Hieber *et al.*, 2005; Ilg y Castella, 2006). Rasgos característicos de este grupo como el pequeño tamaño, la ausencia de formas de resistencia, la posibilidad de refugiarse en el sustrato, permiten que se encuentren adaptados a las condiciones ambientales (hidrológicas) inestables y hostiles (Ilg y Castella, 2006). Sin embargo el único grupo presente en el arroyo Negro, donde las condiciones ambientales son más estables (no necesariamente más favorables) fueron los quironómidos. Las condiciones estables se refieren a que este arroyo es efluente del lago Ventisquero Negro y sus cambios en el caudal serán amortiguados por la cubeta del lago en formación. En el arroyo Blanco este grupo estuvo presente (15.3 %) sin ser dominante pero con una abundancia similar a la encontrada en el arroyo Negro, y en otros ambientes (Hillebrand y Kahlert, 2002). Los cambios repentinos en las condiciones ambientales en el arroyo Blanco se relacionan con reducciones en la diversidad taxonómica y funcional, y en las abundancias de *M. chiloeensis* (Tabla V.7) y *N. magnaspina* (Tabla V.8). Varias especies de los órdenes de Ephemeroptera, y Plecoptera usualmente se asocian a condiciones ambientales más estables (Milner y Petts, 1994; Milner *et al.*, 2001b; Brown, 2005), con menor grado de estrés, y mayores temperaturas (Hieber *et al.*, 2005).

Algunos GFA tuvieron abundancias muy bajas, y además estuvieron representados por un solo género como el caso de los colectores filtradores (Simuliidae)



o los fragmentadores (*Klapopteryx* sp.). Pocas especies de simúlidos han podido colonizar los arroyos glaciares porque poseen baja concentración de materia orgánica particulada en suspensión (Burgherr *et al.*, 2001; Hieber *et al.*, 2005) y el ambiente es hostil ya que el lecho del arroyo cambia profundamente durante grandes crecidas (Sertić Perić y Robinson, 2014) y por el efecto corrosivo de la arcillas glaciares (Burgherr y Ward, 2001). Por otro lado, la aparición del fragmentador *Klapopteryx* sp. fue esporádica (máximo 3% de abundancia, 19 ind. m⁻²), cuando se incrementó la entrada de materia orgánica alóctona hacia el arroyo tal como fuera señalado por otros autores (Uehlinger *et al.*, 2002). Albariño y Díaz Villanueva (2006) señalaron que este fragmentador puede sobrevivir, pero sin crecer, con una dieta compuesta únicamente por perifiton, por esta razón podría mantenerse en el arroyo Blanco en una muy baja abundancia.

Los pastoreadores representaron, en el arroyo Blanco, más del 75% de la comunidad bentónica dominados por *M. chiloeensis* (Ephemeroptera) y *N. magnaspina* (Plecoptera). *M. chiloeensis* es un pastoreador raspador de alto impacto sobre el perifiton en estadios iniciales e intermedios de colonización (Díaz Villanueva y Modenutti, 2004), que favorece el crecimiento de diatomeas postradas, ya que pastorea sobre aquellas que tienen crecimiento en roseta (Díaz Villanueva *et al.*, 2004) y erectas; como se observó en el análisis de abundancia (Tabla V.7). *N. magnaspina* se caracteriza por ser un pastoreador raspador del perifiton más adherido y está relacionado con la abundancia de diatomeas postradas (Tabla V.8), y que al igual que otras especies del género (*N. archiplatae*, Díaz Villanueva y Albariño (1999)) posee una dieta compuesta por algas (incluyendo diatomeas) y detrito del perifiton; con lo que ocasionalmente ingiere arcilla y arena (Epele y Miserendino, 2011).

Estequiometría de los Macroinvertebrados

Las diferencias encontradas en el contenido de C de los quironómidos presentes en el arroyo Blanco y en el arroyo Negro responderían a la calidad del alimento. Mientras que no hubo diferencias significativas en el contenido de N y P, los ejemplares del arroyo Negro tuvieron mayor contenido de C (Tabla V.9 línea gris). Este grupo de colectores recolectores estuvieron sometidos a una peor calidad de alimento (mayor C:P) en el arroyo Negro pero, probablemente debido a la capacidad homeostática de los quironómidos las diferencias no fueron significativas. Sin embargo, frente a una peor calidad de alimento el mayor costo para mantener la homeostasis implicaría una menor



producción secundaria. Este costo se podría ver reflejado en una menor abundancia de este grupo, no obstante la abundancia entre arroyos Negro y Blanco fue similar. Sin embargo es destacable que en el arroyo Blanco además de los quironómidos se encuentran otros colectores-recolectores por lo cual la producción secundaria del GFA es superior.

En el arroyo Blanco, se encontraron diferencias significativas en el contenido de C, N y P entre los diferentes grupos taxonómicos y funcionales de macroinvertebrados. Tales diferencias taxonómicas en el contenido elemental pueden ser vinculadas a las diferencias en el contenido corporal de diferentes biomoléculas (Elser *et al.*, 1996; Elser *et al.*, 2000). Así como las relaciones C:N:P pueden variar en la ontogenia de los macroinvertebrados (Frost *et al.*, 2002a) y según su fisiología, las similitudes entre los diferentes grupos taxonómicos pueden reflejar proximidad taxonómica y/o características funcionales similares, tales como el tipo de alimentación (Fagan *et al.*, 2002). La composición elemental y la variabilidad encontrada en los macroinvertebrados del arroyo Blanco fue similar a la observada en el zooplancton pelágico y en insectos del bentos y terrestres (Fagan *et al.*, 2002; Frost *et al.*, 2003; Cross *et al.*, 2005; Evans-White y Lamberti, 2005; Evans-White *et al.*, 2005; Liess y Hillebrand, 2005).

El contenido corporal de C, N y P son dependientes del taxón (Sturner y Elser, 2002), pero también del GFA al que pertenezcan (Cross *et al.*, 2003). Estudios previos han encontrado mayor porcentaje de N en depredadores en relación a los herbívoros (Fagan *et al.*, 2002; Cross *et al.*, 2003; Evans-White y Lamberti, 2005). En nuestro estudio efectivamente se encontró que los depredadores del arroyo Blanco tuvieron mayor contenido de N que los pastoreadores y colectores recolectores. Fagan *et al.* (2002) proponen que los herbívoros podrían tener un menor contenido de N que los depredadores ya que los insectos herbívoros han desarrollado una menor dependencia del nitrógeno debido a la existencia crónica de bajo contenido de N en su dieta. Esto podría corroborarse si los herbívoros a su vez tuvieran menor contenido de P que los depredadores, ya que las algas generalmente contienen un menor contenido de P que las presas (Evans-White y Lamberti, 2005; Frost *et al.*, 2005a). En los ensambles que estudiamos se encontró que los depredadores efectivamente tienen mayor contenido de P que sus presas, correspondiendo a los GFAs de pastoreadores y de colectores recolectores.



Asimismo el contenido de C puede ser vinculado a las diferencias en la arquitectura y contextura corporal, debido a que pueden funcionar como una gran reserva de biomoléculas (Sterner y Elser, 2002). Especies con grandes exoesqueletos contienen relativamente más C que las especies con exoesqueletos más livianos o reducidos (placas), debido a que las moléculas estructurales, tales como la quitina, están constituidas principalmente por C (Elser *et al.*, 1996; Elser *et al.*, 2000). En el arroyo Blanco se observó que especies fuertemente esclerotizadas y grandes como *Klapopteryx* sp. y *Neuroperla* sp. tuvieron un mayor contenido de C que otras especies. Sin embargo el contenido de C, N y P también puede variar, en diferente grado, a causa del contenido elemental (calidad) de sus recursos (Sterner y Elser, 2002; Persson *et al.*, 2010).

Tal como se observara en los capítulos anteriores, los autótrofos muestran una fuerte variabilidad en su constitución elemental (Hillebrand y Sommer, 1999; Quigg *et al.*, 2003; Klausmeier, 2008; Klausmeier *et al.*, 2008; Persson *et al.*, 2010), debido a que su composición estequiométrica puede variar ampliamente con las fluctuaciones en el suministro de nutrientes y la luz (Sterner y Schulz, 1998). Por su parte, los herbívoros muestran una estequiometría menos variable (Cross *et al.*, 2003; Frost *et al.*, 2003; Evans-White *et al.*, 2005; Persson *et al.*, 2010) y más homogénea (Andersen y Hessen, 1991; DeMott y Pape, 2005). Esta característica fue observada en las relaciones C:N:P de los pastoreadores, donde los balances elementales y su variación fueron menores que las del perifiton. Así los consumidores bentónicos tuvieron mayor contenido de N y P (y consecuentemente menores relaciones C:P y C:N) que sus recursos alimentarios.

Las relaciones elementales (C:N:P) fueron más variables en *M. chiloeensis*, que *N. magnaspina*, el otro pastoreador abundante. Ambos pastoreadores, pertenecientes a los órdenes Ephemeroptera y Plecoptera respectivamente, se caracterizaron por estar estrechamente ligados a las fluctuaciones del carbono que a su vez estuvo condicionado por las diferentes situaciones lumínicas. Nuestros cálculos indicaron que la homeostasis de *M. chiloeensis* fue más débil que *N. magnaspina* (Figura V.8 y V.9). Probablemente esta mayor homeostasis de plecópteros y efemerópteros implica un mayor costo en ambientes con altas relaciones C: nutrientes como el arroyo Negro los que serían difícilmente colonizables. Sin embargo, también hay que considerar la presencia de arcillas en alta concentración como un factor negativo ya que podrían impedir el acceso a las algas. La combinación de estos factores podría determinar la ausencia de estos organismos en el arroyo Negro.

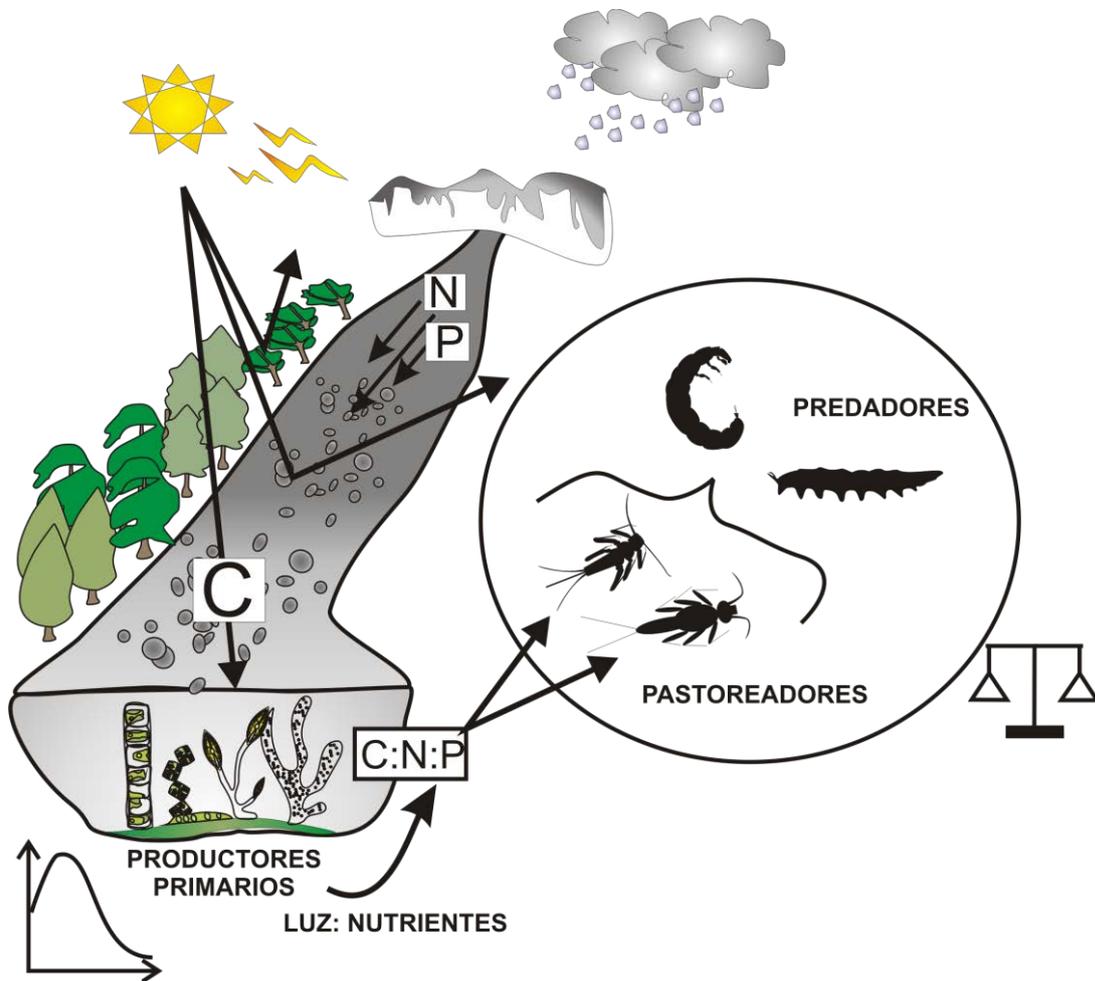


En este estudio fue evidente que los desbalances entre los niveles tróficos respondieron a las condiciones ambientales de la luz. Los cambios de turbidez directamente afectaron la fisiología fotosintética de los productores primarios, y por lo tanto la fijación de C. De esta forma las condiciones lumínicas determinaron la disponibilidad de C en la red trófica y por lo tanto afectaron las relaciones elementales (C:P y C:N) del perifiton y subsecuentemente el contenido elemental de niveles tróficos superiores. Los desbalances elementales fueron menores en condiciones de alta disponibilidad lumínica (Figura V.7 y V.9), debido a que los productores primarios redujeron la fijación de C a causa de la fotoinhibición. Consecuentemente, las condiciones de alta transparencia y alta luminosidad mejoraron la calidad del recurso (perifiton) para los pastoreadores. En estas condiciones, los depredadores tuvieron menos desbalances que en condiciones de menor disponibilidad de luz, ya que sus presas consumieron un alimento más balanceado. Asimismo se incluye la posibilidad que los depredadores tengan contenidos de nutrientes superiores a los de sus presas. Dejando de lado la variabilidad en el contenido de C de los depredadores que fue menor que el de las presas, la mayor variabilidad en el contenido de N y P dentro del grupo de depredadores puede deberse, además de diferencias taxonómicas (Cross *et al.*, 2003), a diferencias en la calidad y cantidad de sus recursos (presas) y por lo tanto en el contenido de N y P de las presas. En tal sentido puede ocurrir que una presa incluya material algal de alto C:P.

El aumento de la desglaciación y de los patrones erráticos de precipitación durante los meses de verano, tenderían a influir negativamente en la diversidad de macroinvertebrados a causa del incremento de la inestabilidad de los arroyos. Esta inestabilidad en las condiciones ambientales afectaría la calidad de luz y de esta forma el desarrollo de los productores primarios que forman parte del perifiton. Así aumentaría la importancia de fuentes alóctonas hacia arroyos glaciares debido al incremento de zonas colonizables por el bosque y de esta forma vería disminuida la importancia de la producción autóctona. La preferencia de los consumidores por la producción autóctona (incluyendo el material senescente) y su sincronía, denotaría posibles cambios en el ensamble de macroinvertebrados frente a modificaciones en las fuentes de materia y energía futuras en un escenario de cambio climático.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES GENERALES



La entrada de las arcillas glaciarias hacia arroyos de deshielo del Monte Tronador está determinada por la velocidad de flujo superficial de los glaciares, y por el clima. El arroyo Blanco recibe agua de deshielo del glaciar Castaño Overo con una baja carga de arcillas debido a la baja velocidad de flujo. Sin embargo, las elevadas temperaturas y las precipitaciones estivales fueron responsables de los picos de turbidez en dicho arroyo. Por otro lado, el arroyo Negro drena el lago proglacial donde se encuentra localizado el glaciar Ventisquero Negro y donde decantan las arcillas productos del desprendimiento de los bloques de hielo. Consecuentemente, el arroyo Negro se caracterizó por poseer una alta carga de sólidos en suspensión de manera constante, y por lo tanto una alta turbidez.

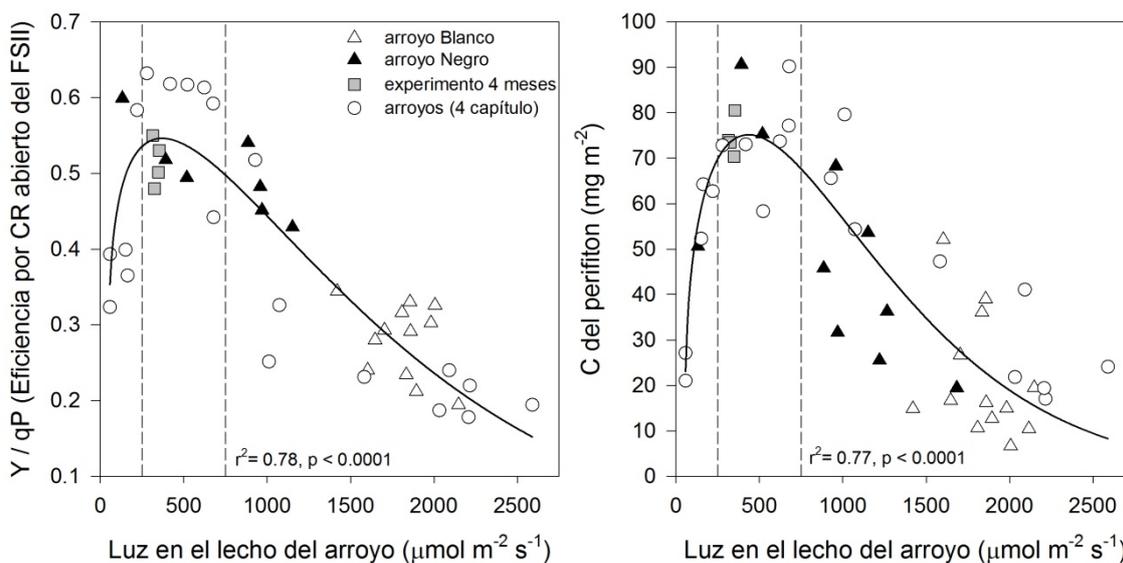
Ambos arroyos (Negro y Blanco) presentaron variaciones significativas en la carga de sólidos en suspensión aunque con un promedio significativamente diferente.

Consecuentemente se modificaron los parámetros fotosintéticos y la relación luz: nutrientes de los productores primarios del perifiton. Tanto en los muestreos a campo en ambos arroyos como en los experimentos realizados *in situ*, se observó que la biomasa perifítica (clorofila *a*) y contenido de carbono varió directamente con disponibilidad lumínica. Es importante mencionar que en estos ambientes la disponibilidad de P es relativamente alta y mayor que en otros ambientes andino-patagónicos. Asimismo se observó una disminución en la relación C:P del perifiton en situaciones de alta disponibilidad lumínica. Esta disminución en el C:P del perifiton se encontró íntimamente asociada con el estado fotosintético de los productores primarios. Los parámetros fotosintéticos analizados revelaron una relativa alta eficiencia en la transferencia de electrones por centro reactivo abierto del fotosistema II en el arroyo Negro, mientras que el arroyo Blanco se caracterizó por poseer el fotosistema II bajo fotoinhibición. Estas determinaciones pudieron también corroborarse experimentalmente. Asimismo la composición comunitaria estuvo condicionada por la disponibilidad lumínica, favoreciendo el tipo de crecimiento en donde se minimizó el efecto nocivo del exceso de luz. Aunque, por otra parte, el aumento en la concentración de arcillas en el arroyo Blanco ocasionó una mejora sustancial en el estado fotosintético de los productores primarios y además un cambio en la composición algal. En efecto, un aumento del derretimiento de los glaciares, con su consiguiente incremento de la carga de arcilla sirvió de protección a los productores primarios contra las altas intensidades lumínicas (radiación fotosintética activa + radiación ultravioleta) en estos arroyos sin dosel.

Los arroyos pueden verse alterados por la retracción glaciaria, pero también por los efectos del cambio climático sobre los ecosistemas terrestres que los rodean. Las futuras variaciones de la posición y composición del bosque en regiones montañosas, traerá aparejado cambios en la dinámica y en el metabolismo de los productores primarios de los ambientes lóticos. La estructura del bosque alteró la disponibilidad de luz modificando los parámetros fotosintéticos, la biomasa y el contenido elemental del perifiton. Estos parámetros exhibieron una relación en forma de campana con la disponibilidad de luz, y ésta a su vez se vio relacionada con la cobertura del dosel. Consecuentemente, las condiciones de luz intermedias resultaron óptimas para la fotosíntesis de los productores primarios con una mayor acumulación de carbono y, por lo tanto, incrementando la relación C:P del perifiton. Sin embargo, estas zonas de dosel intermedio, donde aumenta la relación luz: nutrientes, se prevé que disminuyan en un

futuro, debido al aumento en la probabilidad de ocurrencia de eventos extremos de sequías (estivales) y precipitación, y la deforestación natural.

El índice de radiación (radiación fotosintética activa + radiación ultravioleta) en la Patagonia, es significativamente más alto que otras regiones montañosas del mundo. Con lo cual el sombreado transitorio producido por las arcillas o constante del dosel disminuyen los efectos negativos de la luz sobre los productores primarios. Consecuentemente al unificar los efectos de sombreado se pudo observar que:



- La alta disponibilidad de luz ($> 750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) produce un efecto inhibitorio sobre la capacidad fotosintética, disminuyendo la cantidad de C en el perifiton; debido al exceso de fotones que llegan al fotosistema II.
- Existe un *plateau* entre 250 y $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en donde la eficiencia fotosintética es máxima al igual que la concentración de carbono del perifiton.
- Bajo una limitación lumínica ($< 250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la eficiencia fotosintética disminuye y la cantidad de C en el perifiton es baja.
- Los cambios en las intensidades lumínicas son capaces de modificar las relaciones elementales del perifiton y por lo tanto dar lugar a la existencia de diferentes calidades de recurso para los consumidores.

Las condiciones lumínicas generadas por las arcillas en suspensión en los arroyos glaciares son muy variables temporalmente. Estas modificaciones conllevan cambios significativos en la calidad del perifiton como recurso alimentario (debido a la

variación en la composición elemental) y, en consecuencia, afecta al ensamble de macroinvertebrados. La diversidad de macroinvertebrados del arroyo Blanco estuvo fuertemente afectada por la temperatura del aire y la precipitación, que afectaron la calidad ambiental del arroyo. La temperatura incrementó la diversidad taxonómica y funcional, mientras que las precipitaciones tuvieron un efecto negativo sobre éstas. Asimismo las precipitaciones afectaron la abundancia de los pastoreadores, que fue el grupo funcional más prolífico en el arroyo. *Meridialaris chiloeensis* y *Notoperla magnaspina* fueron los pastoreadores más abundantes, cuyas densidades fueron afectadas negativamente por las precipitaciones y positivamente por la abundancia de su recurso alimentario (algas). La calidad del recurso alimentario fue variando según la disponibilidad lumínica. Frente a condiciones de mayor luz ($> 750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) el perifiton fue más pobre en C y esto hizo que fuera más rico en N y P. En consecuencia, los pastoreadores tuvieron un menor desajuste entre el contenido elemental corporal y de su alimento. Sin embargo, en condiciones de mayor turbidez (y menos luz, entre 250 y $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), la cantidad de C disponible en el perifiton fue máxima, y con ello los desbalances de los pastoreadores.

Como conclusión final de esta Tesis se puede indicar que los cambios en las condiciones lumínicas en los arroyos norpatagónicos, producidos por las arcillas en suspensión o por la estructura del dosel, generan una serie de cambios en el mecanismo fotosintético de los productores primarios; y en la estequiometría y la composición comunitaria del perifiton. Asimismo estos cambios influyen sobre niveles tróficos superiores. La regulación homeostática de la composición elemental de los pastoreadores depende de las condiciones lumínicas, debido a que el nivel de desbalance depende de la fijación de carbono de los productores primarios. Por último los cambios en las condiciones ambientales de los arroyos glaciares están determinados por la temperatura y las precipitaciones, factores que a su vez alteran la diversidad taxonómica y funcional de los macroinvertebrados bentónicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Albariño R. 1997. Spatial Distribution of Plecoptera from an Andean-Patagonic Lotto Environment in Argentina. *Revista Brasileira de Biologia* 57: 629-636.
- Albariño RJ, Balseiro EG. 2002. Leaf litter breakdown in Patagonian streams: native versus exotic trees and the effect of invertebrate size. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 12: 181-192.
- Albariño RJ, Díaz Villanueva V. 2006. Feeding Ecology of Two Plecopterans in Low Order Andean-Patagonian Streams. *International Review of Hydrobiology* 91: 122-135.
- Álvarez C, Veblen TT, Christie DA, González-Reyes Á. 2015. Relationships between climate variability and radial growth of *Nothofagus pumilio* near altitudinal treeline in the Andes of northern Patagonia, Chile. *Forest Ecology and Management* 342: 112-121.
- Allakhverdiev SI, *et al.* 2005. Irreversible photoinhibition of photosystem II is caused by exposure of *Synechocystis* cells to strong light for a prolonged period. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1708: 342-351.
- Allen CD, *et al.* 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* 259: 660-684.
- Andersen T, Hessen DO. 1991. Carbon, nitrogen, and phosphorus content of freshwater zooplankton. *Limnology & Oceanography* 36: 807-814.
- Anderson M. 1964. Studies of the woodland light climate: I. The photographic computation of light conditions. *Journal of Ecology* 52: 27-41.
- Anderson RS, *et al.* 2004. Strong feedbacks between hydrology and sliding of a small alpine glacier. *Journal of Geophysical Research: Earth Surface* 109.
- Angelier E. 2003. Ecology of streams and rivers: *Science Publishers, Inc.*
- Aravena J-C, Luckman BH. 2009. Spatio-temporal rainfall patterns in Southern South America. *International Journal of Climatology* 29: 2106-2120.
- Aubert J. 1956. *Andiperla willinki* n. sp., Plécoptère nouveau des Andes de Patagonie. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 29: 229-232.
- Bahr DB. 1997. Global distributions of glacier properties - a stochastic scaling paradigm. *Water Resources Research* 33: 1669-1679.

- Balseiro E, Albariño R. 2006. C–N mismatch in the leaf litter–shredder relationship of an Andean Patagonian stream detritivore. *Journal of the North American Benthological Society* 25: 607-615.
- Balseiro E, Modenutti B, Queimaliños C, Reissig M. 2007. Daphnia distribution in Andean Patagonian lakes: Effect of low food quality and fish predation. *Aquatic Ecology* 41: 599-609.
- Balseiro E, Queimaliños C, Modenutti B. 2004. Grazing impact on autotrophic picoplankton in two south Andean lakes (Patagonia, Argentina) with different light:nutrient ratios. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 73-85.
- Barros VR, *et al.* 2015. Climate change in Argentina: trends, projections, impacts and adaptation. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change* 6: 151-169.
- Barros VR, *et al.* 2013. Cambio climático en Argentina; tendencias y proyecciones. Barros VR, Vera C editors. Tercera Comunicacion de la República Argentina a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático. Buenos Aires, Argentina: *Centro de Investigaciones del Mar y la Atmósfera, Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación*, p341.
- Benn D, Evans DJ. 2014. *Glaciers and glaciation: Routledge.*
- Biggs BJF, Close ME. 1989. Periphyton biomass dynamics in gravel bed rivers: the relative effects of flows and nutrients. *Freshwater Biology* 22: 209-231.
- Boyero L, *et al.* 2011. A global experiment suggests climate warming will not accelerate litter decomposition in streams but might reduce carbon sequestration. *Ecol Lett* 14: 289-294.
- Brand C, Miserendino L. 2011. Characterizing Trichoptera trophic structure in rivers under contrasting land use in Patagonia, Argentina. *Zoosymposia* 5: 29-40.
- Braun M, Schneider C. 2000. Characteristics of summer energy balance on the west coast of the Antarctic Peninsula. *Annals of Glaciology* 31: 179-183.
- Brown LE. 2005. Hydroecological response of alpine streams to dynamic water source contributions. *University of Birmingham.*
- Brown LE, Hannah DM. 2007. Alpine Stream Temperature Response to Storm Events. *Journal of Hydrometeorology* 8: 952-967.
- Brown LE, Hannah DM, Milner AM. 2007. Vulnerability of alpine stream biodiversity to shrinking glaciers and snowpacks. *Global Change Biology* 13: 958-966.

- Brown LE, Milner AM. 2012. Rapid loss of glacial ice reveals stream community assembly processes. *Global Change Biology* 18: 2195-2204.
- Burgherr P. 2000. Spatio-temporal community patterns of lotic zoobenthos across habitat gradients in an alpine glacial stream ecosystem. *Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Zurich, Switzerland*.
- Burgherr P, Ward J, Glatthaar R. 2001. Diversity, distribution and seasonality of the Simuliidae fauna in a glacial stream system in the Swiss Alps. *Archiv für Hydrobiologie* 152: 19-37.
- Burgherr P, Ward JV. 2001. Longitudinal and seasonal distribution patterns of the benthic fauna of an alpine glacial stream (Val Roseg, Swiss Alps). *Freshwater Biology* 46: 1705-1721.
- Burnham KP, Anderson DR. 2002. Model selection and multimodel inference. A practical information-theoretic approach. New York: *Springer-Verlag*.
- Callieri C, *et al.* 2007. Production and biomass of picophytoplankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: Differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquatic Ecology* 41: 511-523.
- Cantonati M, Gerecke R, Bertuzzi E. 2006. Springs of the Alps – Sensitive Ecosystems to Environmental Change: From Biodiversity Assessments to Long-term Studies. *Hydrobiologia* 562: 59-96.
- Carrasco JF, Osorio R, Casassa G. 2008. Secular trend of the equilibrium-line altitude on the western side of the southern Andes, derived from radiosonde and surface observations. *Journal of Glaciology* 54: 538-550.
- Castella E, *et al.* 2001. Macrobenthic invertebrate richness and composition along a latitudinal gradient of European glacier-fed streams. *Freshwater Biology* 46: 1811-1831.
- Cauvy-Fraunié S, *et al.* 2013. Glacial flood pulse effects on benthic fauna in equatorial high-Andean streams. *Hydrological Processes* 28: 3008-3017.
- Cauvy-Fraunié S, *et al.* 2014. Relationships between stream macroinvertebrate communities and new flood-based indices of glacial influence. *Freshwater Biology* 59: 1916-1925.
- Cauvy-Fraunie S, *et al.* 2015. Invertebrate Metacommunity Structure and Dynamics in an Andean Glacial Stream Network Facing Climate Change. *PLoS One* 10: e0136793.
- Clitherow LR, Carrivick JL, Brown LE. 2013. Food web structure in a harsh glacier-fed river. *PLoS One* 8: e60899.

- Condom T, Coudrain A, Sicart JE, Théry S. 2007. Computation of the space and time evolution of equilibrium-line altitudes on Andean glaciers (10°N–55°S). *Global and Planetary Change* 59: 189-202.
- Cowie NM, Moore RD, Hassan MA. 2013. Effects of glacial retreat on proglacial streams and riparian zones in the coast and north cascade mountains. *Earth Surface Processes and Landforms* 39: 351-365.
- Critchley C, Russell W. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in vivo: The role of protein turnover in photosystem II. *Physiologia Plantarum* 92: 188-196.
- Croce R, van Amerongen H. 2014. Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nature Chemical Biology* 10: 492-501.
- Cross WF, Benstead JP, Frost PC, Thomas SA. 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic systems: recent progress and perspectives. *Freshwater Biology* 50: 1895-1912.
- Cross WF, Benstead JP, Rosemond AD, Bruce Wallace J. 2003. Consumer-resource stoichiometry in detritus-based streams. *Ecology Letters* 6: 721-732.
- Crowley TJ, North GR. 1988. Abrupt climate change and extinction events in earth history. *Science* 240: 996-1002.
- Cuker BE. 1993. Suspended Clays Alter Trophic Interactions in the Plankton. *Ecology* 74: 944-953.
- Cummins KW, Klug MJ. 1979. Feeding ecology of stream invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics* 10: 147-172.
- Chan T, *et al.* 2013. Quality control of photosystem II: lipid peroxidation accelerates photoinhibition under excessive illumination. *PLoS One* 7: e52100.
- Chikita KA, Kemnitz R, Kumai R. 2002. Characteristics of sediment discharge in the subarctic Yukon River, Alaska. *Catena* 48: 235-253.
- Chillrud SN, *et al.* 1994. Chemical weathering of phosphate and germanium in glacial meltwater streams: Effects of subglacial pyrite oxidation. *Limnology and Oceanography* 39: 1130-1140.
- Dahm CN, *et al.* 1998. Nutrient dynamics at the interface between surface waters and groundwaters. *Freshwater Biology* 40: 427-451.
- Danger M, *et al.* 2013. Benthic algae stimulate leaf litter decomposition in detritus-based headwater streams: a case of aquatic priming effect. *Ecological Society of America* 94: 1604-1613.

- Dangles O, *et al.* 2011. Predicting richness effects on ecosystem function in natural communities: insights from high-elevation streams. *Ecology* 92: 733-743.
- Daniels LD, Veblen T. 2004. Spatiotemporal influences of climate on altitudinal treeline in northern Patagonia. *Ecology* 85: 1284-1296.
- Davies-Colley RJ, Hickey CW, Quinn JM, Ryan PA. 1992. Effects of clay discharges on streams. 1. Optical properties and epilithon. *Hydrobiologia* 248: 215-234.
- Davies-Colley RJ, Smith DG. 2001. Turbidity, Suspended Sediment, and Water Clarity: a review. *Journal of the American Water Resources Association* 37: 1085-1101.
- De Nicola M, Hoagland KD, Roemer S. 1992. Influences of Canopy Cover on Spectral Irradiance and Periphyton Assemblages in a Prairie Stream. *Journal of the North American Benthological Society* 114: 391-404.
- DeMott WR, Pape BJ. 2005. Stoichiometry in an ecological context: testing for links between Daphnia P-content, growth rate and habitat preference. *Oecologia* 142: 20-27.
- Derks A, Schaven K, Bruce D. 2015. Diverse mechanisms for photoprotection in photosynthesis. Dynamic regulation of photosystem II excitation in response to rapid environmental change. *Biochimica et Biophysica Acta* 1847: 468-485.
- Dial RJ, *et al.* 2007. Changes in the alpine forest-tundra ecotone commensurate with recent warming in southcentral Alaska: Evidence from orthophotos and field plots. *Journal of Geophysical Research* 112.
- Díaz Villanueva V, Albariño R, Modenutti B. 2004. Grazing impact of two aquatic invertebrates on periphyton from an Andean-Patagonian stream. *Archiv für Hydrobiologie* 159: 455-471.
- Díaz Villanueva V, Albariño RJ. 1999. Feeding habit of Notoperla archiplatae (plecoptera) larvae in a North Patagonia Andean stream, Argentina. *Hydrobiologia* 412: 43-52.
- Díaz Villanueva V, Modenutti B. 2004. Experimental Analysis of Grazing by the Mayfly Meridialaris chiloeensis on Different Successional Stages of Stream Periphyton. *International Review of Hydrobiology* 89: 263-277.
- Dickman EM, Vanni MJ, Horgan MJ. 2006. Interactive effects of light and nutrients on phytoplankton stoichiometry. *Oecologia* 149: 676-689.
- Diehl S, Berger S, Wöhrl R. 2005. Flexible nutrient stoichiometry mediates environmental influences on phytoplankton and its resources. *Ecology* 86: 2931-2945.
- Dirnböck T, Essl F, Rabitsch W. 2011. Disproportional risk for habitat loss of high-altitude endemic species under climate change. *Global Change Biology* 17: 990-996.

- Dodds WK, *et al.* 1996. The relationship of floods, drying, flow and light to primary production and producer biomass in a prairie stream. *Hydrobiologia* 333: 151-159.
- Dominguez E, Fernández H. 2009. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. *Sistemática y biología. Fundación Miguel Lillo, Tucumán.*
- Donato DC. 2013. Limits to upward movement of subalpine forests in a warming climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 110: 7971-7972.
- Dyrgerov M. 2003. Mountain and subpolar glaciers show an increase in sensitivity to climate warming and intensification of the water cycle. *Journal of Hydrology* 282: 164-176.
- Eaton AD, *et al.* 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, USA.: APHA.
- Eisma D. 1993. Suspended matter in the aquatic environment. Michigan, USA: Springer-Verlag.
- Elser JJ, Dobberfuhl DR, MacKay NA, Schampel JH. 1996. Organism size, life history and N:P stoichiometry. *BioScience* 46: 674-685.
- Elser JJ, *et al.* 2010. Biological stoichiometry of plant production: metabolism, scaling and ecological response to global change. *New Phytologist* 186: 593-608.
- Elser JJ, *et al.* 2003. Ecological stoichiometry in the microbial food web a test of the light: nutrient hypothesis. *Aquatic Microbial Ecology* 31: 49-65.
- Elser JJ, *et al.* 2000. Biological stoichiometry from genes to ecosystems. *Ecology Letters* 3: 540-550.
- Elser JJ, Urabe J. 1999. The Stoichiometry of Consumer-Driven Nutrient Recycling: Theory, Observations, and Consequences. *Ecology* 80: 735-751.
- Epele LB, Miserendino ML. 2011. Life cycle, production and habitat selection of *Notoperla fasciata* and *N. magnaspina* (Plecoptera: Gripopterygidae) in a headwater Patagonian stream. *Fundamental and Applied Limnology* 178: 219-229.
- Evans-White MA, Lamberti GA. 2005. Grazer species effects on epilithon nutrient composition. *Freshwater Biology* 50: 1853-1863.
- Evans-White MA, Stelzer RS, Lamberti GA. 2005. Taxonomic and regional patterns in benthic macroinvertebrate elemental composition in streams. *Freshwater Biology* 50: 1786-1799.
- Fagan WF, *et al.* 2002. Nitrogen in insects: implications for trophic complexity and species diversification. *American Naturalist* 160: 784-802.

- Falkowski PG, Raven JA. 2007. Aquatic photosynthesis. New Jersey, USA: *Princeton University Press*.
- Fanta SE, Hill WR, Smith TB, Roberts BJ. 2010. Applying the light : nutrient to stream periphyton. *Freshwater Biology* 2010: 932-940.
- Fellman JB, *et al.* 2015. Evidence for the assimilation of ancient glacier organic carbon in a proglacial stream food web. *Limnology and Oceanography* 60: 1118-1128.
- Finn DS, Räsänen K, Robinson CT. 2010. Physical and biological changes to a lengthening stream gradient following a decade of rapid glacial recession. *Global Change Biology* 16: 3314-3326.
- Fisher SG, *et al.* 1998. Material spiraling in stream corridors: a telescoping ecosystem model. *Ecosystems* 1: 19-34.
- Fountain A, Walder JS. 1998. Water flow through temperate glaciers. *Review of Geophysics*: 299-328.
- Frost P, Elser JJ, Turner MA. 2002a. Effects of caddisfly grazers on the elemental composition of epilithon in a boreal lake. *Journal of the North American Benthological Society* 21: 54-63.
- Frost P, *et al.* 2005a. Are you what you eat? Physiological constraints on organismal stoichiometry in an elementally imbalanced world. *Oikos* 109: 18-28.
- Frost P, Stelzer RS, Lamberti GA, Elser JJ. 2002b. Ecological stoichiometry of trophic interactions in the benthos: understanding the role of C:N:P ratios in lentic and lotic habitats. *Journal of the North American Benthological Society* 21: 515-528.
- Frost PC, Cross WF, Benstead JP. 2005b. Ecological stoichiometry in freshwater benthic ecosystems: an introduction. *Freshwater Biology* 50: 1781-1785.
- Frost PC, *et al.* 2007. Effects of dissolved organic matter and ultraviolet radiation on the accrual, stoichiometry and algal taxonomy of stream periphyton. *Freshwater Biology* 52: 319-330.
- Frost PC, Hillebrand H, Kahlert M. 2005c. Low algal carbon content and its effect on the C : P stoichiometry of periphyton. *Freshwater Biology* 50: 1800-1807.
- Frost PC, Tank SE, Turner MA, Elser JJ. 2003. Elemental Composition of Littoral Invertebrates from Oligotrophic and Eutrophic Canadian Lakes. *Journal of the North American Benthological Society* 22: 51.
- Füreder L, *et al.* 2006. Macroinvertebrate Diversity in Alpine Lakes: Effects of Altitude and Catchment Properties. *Hydrobiologia* 562: 123-144.

- Füreder L, Schütz C, Wallinger M, Burger R. 2001. Physico-chemistry and aquatic insects of a glacier-fed and a spring-fed alpine stream. *Freshwater Biology* 46: 1673-1690.
- Füreder L, Welter C, Jackson JK. 2003. Dietary and stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) analyses in alpine stream insects. *International Review of Hydrobiology* 88: 314-331.
- Garreaud RD, Lopez P, Minvielle M, Rojas M. 2012. Large-Scale Control on the Patagonian Climate. *Journal of Climate* 26: 215-230.
- Geider RJ. 1987. Light and temperature dependence of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae and cyanobacteria: implications for physiology and growth of phytoplankton. *New Phytologist* 106: 1-34.
- Gjerløv C, Richardson JS. 2010. Experimental increases and reductions of light to streams: effects on periphyton and macroinvertebrate assemblages in a coniferous forest landscape. *Hydrobiologia* 652: 195-206.
- Goedkoop W, Johnson RK. 1996. Pelagic-benthic coupling: Profundal benthic community response to spring diatom deposition in mesotrophic Lake Erken. *Limnology and Oceanography* 41: 636-647.
- Graham AA, McCaughan DJ, McKee FS. 1987. Measurement of surface area of stones. *Hydrobiologia* 157: 85-87.
- Grigorév AA, Moiseev PA, Nagimov ZY. 2013. Dynamics of the timberline in high mountain areas of the nether-polar Urals under the influence of current climate change. *Russian Journal of Ecology* 44: 312-323.
- Grueber CE, Nakagawa S, Laws RJ, Jamieson IG. 2011. Multimodel inference in ecology and evolution: challenges and solutions. *Journal of Evolutionary Biology* 24: 69-711.
- Gurnell A, Hannah D, Lawler D. 1996. Suspended sediment yield from glacier basins. *Erosion and Sediment Yield: Global and Regional Perspectives* 236: 97-104.
- Häder D-P, et al. 2002. Role of protective and repair mechanisms in the inhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Photochemical & Photobiological Sciences* 1: 809-814.
- Häder DP, Helbling EW, Williamson CE, Worrest RC. 2011. Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences* 10: 242-260.

- Häder DP, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC. 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences* 6: 267-285.
- Hamerlík L, Jacobsen D. 2012. Chironomid (Diptera) distribution and diversity in Tibetan streams with different glacial influence. *Insect Conservation and Diversity* 5: 319-326.
- Hannah DM, *et al.* 2007. Integrating climate-hydrology-ecology for alpine river systems. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 17: 636-656.
- Harsch MA, Hulme PE, McGlone MS, Duncan RP. 2009. Are treelines advancing? A global meta-analysis of treeline response to climate warming. *Ecology Letters* 12: 1040-1049.
- Hauer FR, Lamberti GA. 2007. *Methods in Stream Ecology: Elsevier Inc.*
- Hessen DO, Elser JJ. 2005. Elements of ecology and evolution. *Oikos* 109: 3-5.
- Hessen DO, Færøvig PJ, Andersen T. 2002. Light, nutrients, and P:C ratios in algae: grazer performance related to food quality and quantity. *Ecology* 83: 1886-1898.
- Hieber M, Robinson CT, Uehlinger U, Ward JV. 2002. Are alpine lake outlets less harsh than other alpine streams? *Archiv fuer Hydrobiologie* 154: 199-223.
- Hieber M, Robinson CT, Uehlinger URS, Ward JV. 2005. A comparison of benthic macroinvertebrate assemblages among different types of alpine streams. *Freshwater Biology* 50: 2087-2100.
- Hieber M, Robinson T, Uehlinger U. 2003. Seasonal and diel patterns of invertebrate drift in different alpine stream types. *Freshwater Biology* 48: 1078-1092.
- Hildebrand-Vogel R, Godoy R, Vogel A. 1990. Subantarctic-Andean Nothofagus pumilio Forests: Distribution Area and Synsystematic Overview; Vegetation and Soils as Demonstrated by an Example of a South Chilean Stand. *Vegetatio* 89: 55-68.
- Hill WR, Dimick SM. 2002. Effects of riparian leaf dynamics on periphyton photosynthesis and light utilisation efficiency. *Freshwater Biology* 47: 1245-1256.
- Hill WR, Fanta SE. 2008. Phosphorus and light limit periphyton growth at subsaturating irradiances. *Freshwater Biology* 23: 215-225.
- Hill WR, Fanta SE, Roberts BJ. 2009. Quantifying phosphorus and light effects in stream algae. *Limnology and Oceanography* 54: 368-380.
- Hill WR, Ryon MG, Schilling EM. 1995. Light Limitation in a Stream Ecosystem: Responses by Primary Producers and Consumers. *Ecology* 76: 1297-1309.

- Hillebrand H. 2005. Light regime and consumer control of autotrophic biomass. *Journal of Ecology* 93: 758-769.
- Hillebrand H, Kahlert M. 2001. Effect of grazing and nutrient supply on periphyton biomass and nutrient stoichiometry in habitats of different productivity. *Limnology and Oceanography* 46: 1881-1898.
- Hillebrand H, Kahlert M. 2002. Effect of grazing and water column nutrient supply on biomass and nutrient content of sediment microalgae. *Aquatic Botany* 72: 143-159.
- Hillebrand H, Sommer U. 1999. The nutrient stoichiometry of benthic microalgal growth: Redfield proportions are optimal. *Limnology and Oceanography* 44: 440-446.
- Hodoki Y, Ohbayashi KH. 2005. Species-specific responses of freshwater diatoms to solar ultraviolet radiation. *Archiv fur Hydrobiologie* 162: 431-443.
- Holtmeier F-K, Broll G. 2005. Sensitivity and response of northern hemisphere altitudinal and polar treelines to environmental change at landscape and local scales. *Global Ecology and Biogeography* 14: 395-410.
- Hollmann MET, Miserendino L. 2006. Habitat preference and life history of the mayflies *Matamonius anceps* Eaton (Nesameletidae) and *Maridialaris chiloeensis* Demoulin (Leptophlebiidae) in a Patagonian mountain stream. *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology* 42: 233-240.
- Hood E, *et al.* 2009. Glaciers as a source of ancient and labile organic matter to the marine environment. *Nature* 462: 1044-1047.
- Horton P, *et al.* 2008. Photosynthetic acclimation: does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states? *European Journal of Biochemistry* 275: 1069-1079.
- Hylander S, *et al.* 2011. Climate-induced input of turbid glacial meltwater affects vertical distribution and community composition of phyto- and zooplankton. *Journal of Plankton Research* 33: 1239-1248.
- Iglesias V, *et al.* 2012. Climate and local controls of long-term vegetation dynamics in northern Patagonia (Lat 41°S). *Quaternary Research* 78: 502-512.
- Ilg C, Castella E. 2006. Patterns of macroinvertebrate traits along three glacial stream continuums. *Freshwater Biology* 51: 840-853.
- Jacobsen A, Milner AM, Brown LE, Dangles O. 2012. Biodiversity under threat in glacier-fed river systems. *Nature Climate Change* 2: 361-364.
- Jacobsen D. 2003. Altitudinal changes in diversity of macroinvertebrates from small streams in the Ecuadorian Andes. *Archiv fur Hydrobiologie* 158: 145-167.

- Jacobsen D. 2004. Contrasting patterns in local and zonal family richness of stream invertebrates along an Andean altitudinal gradient. *Freshwater Biology* 49: 1293-1305.
- Jacobsen D. 2005. Temporally variable macroinvertebrate–stone relationships in streams. *Hydrobiologia* 544: 201-214.
- Jacobsen D, *et al.* 2014a. Temporal variability in discharge and benthic macroinvertebrate assemblages in a tropical glacier-fed stream. *Freshwater Science* 33: 32-45.
- Jacobsen D, *et al.* 2014b. Runoff and the longitudinal distribution of macroinvertebrates in a glacier-fed stream: implications for the effects of global warming. *Freshwater Biology* 59: 2038-2050.
- Jacobsen D, Dangles O. 2012. Environmental harshness and global richness patterns in glacier-fed streams. *Global Ecology and Biogeography* 21: 647-656.
- Jacobsen D, *et al.* 2010. Longitudinal zonation of macroinvertebrates in an Ecuadorian glacier-fed stream: do tropical glacial systems fit the temperate model? *Freshwater Biology* 55: 1234-1248.
- Jiang X, Xie Z, Chen Y. 2013. Longitudinal patterns of macroinvertebrate communities in relation to environmental factors in a Tibetan-Plateau river system. *Quaternary International* 304: 107-114.
- Kerr SJ. 1995. Silt, Turbidity and Suspended Sediments in the Aquatic Environment: An Annotated Bibliography and Literature Review. Ontario, Canada: *Ontario Ministry of Natural Resources, Southern Region Science & Technology Transfer Unit Technical Report TR-008*, p277.
- Khatoon M, *et al.* 2009. Quality control of photosystem II: Thylakoid unstacking is necessary to avoid further damage to the D1 protein and to facilitate D1 degradation under light stress in spinach thylakoids. *Journal of Biological Chemistry* 284: 25343-25352.
- Kirk JTO. 1994. Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems: *Cambridge University Press*.
- Klausmeier CA. 2008. Floquet theory: A useful tool for understanding nonequilibrium dynamics. *Theoretical Ecology* 1: 153-161.
- Klausmeier CA, Litchman E, Daufresne T, Levin SA. 2008. Phytoplankton stoichiometry. *Ecological Research* 23: 479-485.

- Kominoski JS, Rosemond AD. 2012. Conservation from the bottom up: forecasting effects of global change on dynamics of organic matter and management needs for river networks. *Freshwater Science* 31: 51-68.
- Körner C. 2007. Climatic treelines: conventions, global patterns, causes. *Erdkunde* 61: 316-324.
- Körner C. 2012. Alpine Treelines: Functional ecology of the Global High Elevation Tree Limits. Basel, Switzerland: *Springer*.
- Krause-Jensen D, Sand-Jensen K. 1998. Light attenuation and photosynthesis of aquatic plant communities. *Limnology and Oceanography* 43: 396-407.
- Laspoumaderes C, *et al.* 2013. Glacier melting and stoichiometric implications for lake community structure: zooplankton species distributions across a natural light gradient. *Global Change Biology* 19: 316-326.
- Laursen S, *et al.* 2015. Diversity and composition of macroinvertebrate assemblages in high-altitude Tibetan streams. *Inland Waters* 5: 263-274.
- Leathwick J, Austin M. 2001. Competitive interactions between tree species in New Zealand's old-growth indigenous forests. *Ecology* 82: 2560-2573.
- Leclercq PW, *et al.* 2012. Modelling and climatic interpretation of the length fluctuations of Glaciar Frías (north Patagonian Andes, Argentina) 1639-2009 AD. *Climate of the Past* 8: 1385-1402.
- Ledger ME, Harris RM, Armitage PD, Milner AM. 2008. Disturbance frequency influences patch dynamics in stream benthic algal communities. *Oecologia* 155: 809-819.
- Leiva JC. 1999. Recent fluctuations of the Argentinian glaciers. *Global and Planetary Change* 22: 169-177.
- Leu EVA, FÆRØVig PJ, Hessen DO. 2006. UV effects on stoichiometry and PUFAs of *Selenastrum capricornutum* and their consequences for the grazer *Daphnia magna*. *Freshwater Biology* 51: 2296-2308.
- Liess A, Hillebrand H. 2005. Stoichiometric variation in C:N, C:P, and N:P ratios of littoral benthic invertebrates. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 256-269.
- Lind OT, Chrzanowski TH, Dávalos-Lind L. 1997. Clay turbidity and the relative production of bacterioplankton and phytoplankton. *Hydrobiologia* 353: 1-18.
- Lock MA, *et al.* 1984. River Epilithon: Toward a Structural-Functional Model. *Oikos* 42: 10-22.

- Lods-Crozet B, *et al.* 2001. Macroinvertebrate community structure in relation to environmental variables in a Swiss glacial stream. *Freshwater Biology* 46: 1641-1661.
- Logue JB, Robinson CT, Meier C, Van der Meer JR. 2004. Relationship between sediment organic matter, bacteria composition, and the ecosystem metabolism of alpine streams. *Limnology and Oceanography* 49: 2001-2010.
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG. 1994. Photoinhibition of Photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 633-662.
- Macias-Fauria M, Johnson EA. 2013. Warming-induced upslope advance of subalpine forest is severely limited by geomorphic processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 110: 8117-8122.
- Magnin A, Puntieri J, Villalba R. 2014. Interannual variations in primary and secondary growth of *Nothofagus pumilio* and their relationships with climate. *Trees* 28: 1463-1471.
- Magrin GO, *et al.* 2014. Central and South America. Barros VR, Field CB, Dokken DJ, Mastrandrea MD, Mach KJ, Bilir TE, Chatterjee M, Ebi KL, Estrada YO, Genova RC, Girma B, Kissel ES, Levy AN, MacCracken S, Mastrandrea PR, White LL editors. Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: *Cambridge University Press*, p1499-1566.
- Maiolini B, Lencioni V. 2001. Longitudinal distribution of macroinvertebrates assemblages in a glacially influenced stream system in the Italian Alps. *Freshwater Biology* 46: 1625-1639.
- Maiolini B, *et al.* 2006. Zoobenthic communities of inlets and outlets of high altitude Alpine lakes. *Hydrobiologia* 562: 217-229.
- Marcott SA, Shakun JD, Clark PU, Mix AC. 2013. A Reconstruction of Regional and Global Temperature for the Past 11,300 Years. *Science* 339: 1198-1201.
- Marengo J, *et al.* 2010. Climate Change : Evidence and Future Scenarios for the Andean Region. Herzog S, Martínez R, Jorgensen P, Tiessen H editors. Climate Change and Biodiversity in the Tropical Andes: *IAI - SCOPE*, p110-127.
- Markert B, *et al.* 1997. A contribution to the study of the heavy-metal and nutritional element status of some lakes in the southern Andes of Patagonia (Argentina). *Science of The Total Environment* 206: 1-15.

- Martínez Pastur GJ, *et al.* 2011. Canopy structure analysis for estimating forest regeneration dynamics and growth in *Nothofagus pumilio* forests. *Annals of Forest Science* 68: 587-594.
- Masiokas HM, Villalba R, Luckman HB, Maugét S. 2010a. Intra-to multidecadal variations of snowpack and streamflow records in the andes of Chile and Argentina between 30° and 37°S. *Journal of Hydrometeorology* 11: 822-831.
- Masiokas MH, *et al.* 2010b. Little Ice Age fluctuations of Glaciar Río Manso in the north Patagonian Andes of Argentina. *Quaternary Research* 73: 96-106.
- Masiokas MH, *et al.* 2009. Glacier fluctuations in extratropical South America during the past 1000 years. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 281: 242-268.
- Masiokas MH, *et al.* 2008. 20th-century glacier recession and regional hydroclimatic changes in northwestern Patagonia. *Global and Planetary Change* 60: 85-100.
- Massaccesi G, Roig FA, Martínez Pastur GJ, Barrera MD. 2007. Growth patterns of *Nothofagus pumilio* trees along altitudinal gradients in Tierra del Fuego, Argentina. *Trees* 22: 245-255.
- Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- McCormick PV, Stevenson RJ. 1991. Grazer control of nutrient availability in the periphyton. *Oecologia* 86: 287-291.
- McKenney DW, *et al.* 2007. Potential Impacts of Climate Change on the Distribution of North American Trees. *BioScience* 57: 939.
- McLellan ID, Miserendino L, Hollmann MET. 2006. Two new species of Notoperla (Plecoptera: Gripopterygidae) and a redescription of Notoperlopsis femina Illies. *Zootaxa* 1140: 53-68.
- McNamara AE, Hill WR. 2000. UV-B irradiance gradient affects photosynthesis and pigments but not food quality of periphyton. *Freshwater Biology* 43: 649-662.
- Meier MF, Dyurgerov MB, McCabe GJ. 2003. The health of glaciers: Recent changes in glacier regime. *Climatic Change* 59: 123-135.
- Mercado M, Elliott S. 2004. Taxonomic revision of the genus *Metamonius* Eaton (Nesameletidae: Ephemeroptera), with notes on its biology and distribution. *Studies on neotropical Fauna and Environment* 39: 149-157.
- Merritt R, Cummins K. 1996a. An introduction to the aquatic insects of North America, 3rd Edition. Kendall Hunt, Iowa, USA.

- Merritt R, Cummins K. 1996b. Trophic relations of macroinvertebrates. Academic Press, San Diego.
- Milner A, Brittain J, Castella E, Petts GE. 2001a. Trends of macroinvertebrate community structure in glacier-fed rivers in relation to environmental conditions: a synthesis. *Freshwater Biology* 46: 1833-1847.
- Milner A, *et al.* 2011. Evolution of a stream ecosystem in recently deglaciated terrain. *Ecology* 92: 1924-1935.
- Milner A, Taylor RC, Winterbourn MJ. 2001b. Longitudinal distribution of macroinvertebrates in two glacier-fed New Zealand rivers. *Freshwater Biology* 46: 1765-1775.
- Milner AM, Brown LE, Hannah DM. 2009. Hydroecological response of river systems to shrinking glaciers. *Hydrological Processes* 23: 62-77.
- Milner AM, Petts GE. 1994. Glacial rivers: physical habitat and ecology. *Freshwater Biology* 32: 295-307.
- Milly PCD, Dunne KA, Vecchia AV. 2005. Global pattern of trends in streamflow and water availability in a changing climate. *Nature* 438: 347-350.
- Minshall GW, Petersen RC, Cummins KW. 1983. Interbiome comparison of stream ecosystem dynamics. *Ecological Monographs* 53: 1-25.
- Miserendino L. 2001. Macroinvertebrate assemblages in Andean Patagonian rivers and streams: environmental relationships. *Hydrobiologia* 444: 147-158.
- Miserendino ML, Pizzolon LA. 2000. Macroinvertebrates of a fluvial system in Patagonia: altitudinal zonation and functional structure. *Archiv fur Hydrobiologie* 150: 55-83.
- Mladenov N, *et al.* 2011. Dust inputs and bacteria influence dissolved organic matter in clear alpine lakes. *Nature Communications* 2: 405.
- Modenutti B, *et al.* 2013. Environmental changes affecting light climate in oligotrophic mountain lakes: the deep chlorophyll maxima as a sensitive variable. *Aquatic Sciences*.
- Modenutti B, *et al.* 2004. Increase in photosynthetic efficiency as a strategy of planktonic organisms exploiting deep lake layers. *Freshwater Biology* 49: 160-169.
- Modenutti B, Pérez G, Balseiro E, Queimaliños C. 2000. The relationship between light attenuation, chlorophyll a and total suspended solids in a Southern Andes glacial lake. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 27: 2648-2651.

- Modenutti BE, Balseiro EG, Callieri C, Bertoni R. 2008. Light versus food supply as factors modulating niche partitioning in two pelagic mixotrophic ciliates. *Limnology and Oceanography* 53: 446-455.
- Moe SJ, *et al.* 2005. Recent advances in ecological stoichiometry: insights for population and community ecology. *Oikos* 109: 29-39.
- Montgomery RA, Chazdon RL. 2001. Forest structure, canopy architecture and light transmittance in tropical wet forests. *Ecological Engineering* 82: 2707-2718.
- Moore RD, *et al.* 2009. Glacier change in western North America: Influences on hydrology, geomorphic hazards and water quality. *Hydrological Processes* 23: 42-61.
- Morris DP, *et al.* 1995. The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology & Oceanography* 40(8): 1381-1391.
- Morris EM, Vaughan DG. 2003. Spatial and temporal variation of surface temperature on the Antarctic Peninsula and the limit of viability of ice shelves. *Antarctic Research Series* 79: 61-68.
- Mulholland PJ, Roberts BJ, Hill WR, Smith JG. 2009. Stream ecosystem responses to the 2007 spring freeze in the southeastern United States: Unexpected effects of climate change. *Global Change Biology* 15: 1767-1776.
- Müller P, Li XP, Niyogi KK. 2001. Non-Photochemical Quenching. A Response to Excess Light Energy. *Plant Physiology* 125: 1558-1566.
- Murakami T, *et al.* 2012. Limnological features of glacier-fed rivers in the Southern Tibetan Plateau, China. *Limnology* 13: 301-307.
- Murata N, Allakhverdiev SI, Nishiyama Y. 2012. The mechanism of photoinhibition in vivo: re-evaluation of the roles of catalase, α -tocopherol, non-photochemical quenching, and electron transport. *Biochimica et Biophysica Acta* 1817: 1127-1133.
- Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev S. 2007a. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1767: 414-421.
- Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev SI. 2007b. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta* 1767: 414-421.
- Murchie EH, Niyogi KK. 2011. Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. *Plant Physiology* 155: 86-92.
- Naruse R, Fukami H, Aniya M. 1992. Short-term variations in flow velocity of Glacier Soler, Patagonia, Chile. *Journal of Glaciology* 38: 152-156.

- Nijssen B, O'Donnell G, Hamlet A, Lettenmaier D. 2001. Hydrologic Sensitivity of Global Rivers to Climate Change. *Climatic Change* 50: 143-175.
- Nishiyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N. 2011. Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiologia Plantarum* 142: 35-46.
- Normand S, *et al.* 2013. A greener Greenland? Climatic potential and long-term constraints on future expansions of trees and shrubs. *Philosophical Transactions - Royal Society of London, B* 368: 20120479.
- Núñez MN, Solman SA, Cabré MF. 2008. Regional climate change experiments over southern South America. II: Climate change scenarios in the late twenty-first century. *Climate Dynamics* 32: 1081-1095.
- Nusch EA. 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie–Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 14: 14-36.
- O'Grady AP, Tissue DT, Beadle CL. 2011. Canopy processes in a changing climate. *Tree Physiology* 31: 887-892.
- Oerlemans J. 1994. Quantifying Global Warming from the Retreat of Glaciers. *Science* 264: 243-245.
- Pachauri RK, Reisinger A. 2007. Climate change 2007: Synthesis report. *Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*: 104.
- Palmer MA, *et al.* 2009. Climate change and river ecosystems: protection and adaptation options. *Environmental Management* 44: 1053-1068.
- Paterson WSB, Cuffney TF. 2010. The physics of glaciers, 4th Edition. Academic Press, USA.: *Elsevier*.
- Paulsen J, Körner C. 2014. A climate-based model to predict potential treeline position around the globe. *Alpine Botany* 124: 1-12.
- Perkins DM, Reiss J, Yvon-Durocher G, Woodward G. 2010. Global change and food webs in running waters. *Hydrobiologia* 657: 181-198.
- Persson J, *et al.* 2010. To be or not to be what you eat: regulation of stoichiometric homeostasis among autotrophs and heterotrophs. *Oikos* 119: 741-751.
- Pescador M, Peters WL. 1986. Revision of the genera *Meridialaris* and *Massartellopsis* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae: Atalophlebiinae) from South America. *Transactions of the American Entomological Society* 112: 147-189.

- Peters GP, *et al.* 2013. The challenge to keep global warming below 2 degrees °C
Nature Climate Change 3: 4-6.
- Peters RL. 1990. Effects of global warming on forests. *Forest Ecology and Management* 35: 13-33.
- Peters WL, Edmunds GF. 1972. A Revision of the Generic Classification of Certain Leptophlebiidae from Southern South America (Ephemeroptera). *Annals of the Entomological Society of America* 65: 1399-1414.
- Peterson CG, Stevenson RJ. 1992. Resistance and Resilience of Lotic Algal Communities: Importance of Disturbance Timing and Current. *Ecology* 73: 1445-1461.
- Pritchard HD, Vaughan DG. 2007. Widespread acceleration of tidewater glaciers on the Antarctic Peninsula. *Journal of Geophysical Research: Earth Surface* 112.
- Qin P, Mayer CM, Schulz KL, Roitchie ME. 2007. Ecological stoichiometry in benthic food webs: Effect of light and nutrients on periphyton food quantity and quality in lakes. *Limnology and Oceanography* 52: 1728-1734.
- Quigg A, *et al.* 2003. The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature* 425: 291-294.
- Rabassa J. 2010. El cambio climático global en la Patagonia desde el viaje de Charles Darwin hasta nuestros días. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 67: 139-156.
- Rabassa J, Rubulis S, Brandani A. 1980. East-west and north-south snow line gradients in the northern Patagonian Andes, Argentina. *proceedings of the Riederalp Workshop, World Glacier Inventory* 126: 1-9.
- Rader R, Belish T. 1997. Effects of Ambient and Enhanced UV-B Radiation on Periphyton in a Mountain Stream. *Journal of Freshwater Ecology* 12: 615-628.
- Randin CF, *et al.* 2013. Do the elevational limits of deciduous tree species match their thermal latitudinal limits? *Global Ecology and Biogeography* 22: 913-923.
- Raven JA. 2011. The cost of photoinhibition. *Physiologia Plantarum* 142: 87-104.
- Rehm EM, Feeley KJ. 2013. Forest patches and the upward migration of timberline in the southern Peruvian Andes. *Forest Ecology and Management* 305: 204-211.
- Reiners W. 1986. Complementary models for ecosystems. *American Naturalist* 127: 59-73.
- Riihimäki CA, *et al.* 2005. Sediment evacuation and glacial erosion rates at a small alpine glacier. *Journal of Geophysical Research: Earth Surface* 110.

- Robinson CT, Tockner K, Burgherr P. 2002. Seasonal patterns in macroinvertebrate drift and seston transport in streams of an alpine glacial flood plain. *Freshwater Biology* 47: 985-993.
- Robinson CT, Uehlinger U, Hieber M. 2001. Spatio-temporal variation in macroinvertebrate assemblages of glacial streams in the Swiss Alps. *Freshwater Biology* 46: 1663-1672.
- Roháček K, Soukupová J, Bartak M. 2008. Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study plant physiology and plant stress. *Plant Cell Compartments - Selected Topics* 41-104.
- Rosemond AD, Mulholland P, Elwood JW. 1993. Top-Down and Bottom-Up Control of Stream Periphyton: Effects of Nutrients and Herbivores. *Ecology* 74: 1264-1280.
- Ross ON, Sharples J. 2008. Swimming for survival: A role of phytoplankton motility in a stratified turbulent environment. *Journal of Marine Systems* 70: 248-262.
- Röthlisberger H, Lang H. 1987. Glacial Hydrology. Gurnell AM, Clark MJ editors. Glacio-Fluvial diment Transfer-An Alpine Perspective. Chichester, New York, Toronto, Singapore.: *John Wiley and Sons*, p207-284.
- Rott E, Cantonati M, Füreder L, Pfister P. 2006a. Benthic Algae in High Altitude Streams of the Alps – a Neglected Component of the Aquatic Biota. *Hydrobiologia* 562: 195-216.
- Rott E, *et al.* 2006b. A conceptual model for niche differentiation of biota within an extreme stream microhabitat. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 29: 1-3.
- Ruiz L, *et al.* 2015. First surface velocity maps for glaciers of Monte Tronador, North Patagonian Andes, derived from sequential Pléiades satellite images. *Journal of Glaciology*.
- Ruiz L, *et al.* 2016. Recent geodetic mass balance of Monte Tronador glaciers, North Patagonian Andes. *The Cryosphere Discussions*: 1-25.
- Sagredo EA, Lowell TV. 2012. Climatology of Andean glaciers: A framework to understand glacier response to climate change. *Global and Planetary Change* 86-87: 101-109.
- Salinger J, Chinn T, Willsman A, Fitzharris B. 2008. Glacier response to climate change. *Water & Atmosphere* 16: 16-17.
- Schansker G, *et al.* 2011. Evidence for a fluorescence yield change driven by a light-induced conformational change within photosystem II during the fast chlorophyll a

- fluorescence rise. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1807: 1032-1043.
- Sertić Perić M, Jolidon C, Uehlinger U, Robinson CT. 2015. Long-term ecological patterns of alpine streams: An imprint of glacial legacies. *Limnology and Oceanography* 60: 992-1007.
- Sertić Perić M, Robinson CT. 2014. Spatio-temporal shifts of macroinvertebrate drift and benthos in headwaters of a retreating glacier. *Hydrobiologia* 751: 25-41.
- Shannon C, Weaver W. 1949. The mathematical theory of communication.: *Blackwell Publishing: Oxford, UK*.
- Slemmons KEH, Saros JE, Simon K. 2013. The influence of glacial meltwater on alpine aquatic ecosystems: A review. *Environmental Sciences: Processes and Impacts* 15: 1794-1806.
- Smith B, Hannah D, Gurnell A, Petts GE. 2001. A hydrogeomorphological context for ecological research on alpine glacial rivers. *Freshwater Biology* 46: 1579-1596.
- Snook DL, Milner AM. 2002. Biological traits of macroinvertebrates and hydraulic conditions in a glacier-fed catchment (French Pyrénées). *Archiv fur Hydrobiologie* 153: 245-271.
- Steinman A. 1996. Effects of grazers on freshwater benthic algae. Stevenson R, Bothwell M, Lowe R, Thorp J editors. *Algal ecology: Freshwater benthic ecosystem*. Academic Press, San Diego, CA, p341-373.
- Steinman AD. 1992. Does an increase in irradiance influence periphyton in a heavily-grazed woodland stream? *Oecologia* 91: 163-170.
- Stelzer RS, Lamberti GA. 2001. Effects of N-P ratio and total nutrient concentration on stream periphyton community structure, biomass and elemental composition. *Limnology and Oceanography* 46: 356-367.
- Sterner RW, Elser JJ. 2002. Ecological stoichiometry : the biology of elements from molecules to the biosphere. Princeton: *Princeton University Press*. 439 p.p.
- Sterner RW, *et al.* 1997. The light: nutrient ration in lakes: the balance of energy and materials affects ecosystem structure and process. *American Naturalist* 150: 663-684.
- Sterner RW, Schulz KL. 1998. Zooplankton nutrition: recent progress and a reality check. *Aquatic Ecology* 32: 261-279.
- Stovall JP, Keeton WS, Kraft CE. 2009. Late-successional riparian forest structure results in heterogeneous periphyton distributions in low-order streams. *Canadian Journal of Forest Research* 39: 2343-2354.

- Suarez ML, Kitzberger T. 2008. Recruitment patterns following a severe drought: long-term compositional shifts in Patagonian forests. *Canadian Journal of Forest Research* 38: 3002-3010.
- Suarez ML, Kitzberger T. 2010. Differential effects of climate variability on forest dynamics along a precipitation gradient in northern Patagonia. *Journal of Ecology* 98: 1023-1034.
- Suarez ML, Villalba R, Mundo IA, Schroeder N. 2015. Sensitivity of *Nothofagus dombeyi* tree growth to climate changes along a precipitation gradient in northern Patagonia, Argentina. *Trees* 29: 1053-1067.
- Sugiyama S, Gudmundsson GH. 2003. Short-term variations in glacier flow controlled by subglacial water pressure at Lauteraargletscher, Bernese Alps, Switzerland. *Journal of Glaciology* 50: 353-362.
- Sun J, Liu DY. 2003. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research* 25: 1331-1346.
- Svenning JC, Sandel B. 2013. Disequilibrium vegetation dynamics under future climate change. *American Journal of Botany* 100: 1266-1286.
- Sweeney BW. 1992. Streamside forests and the physical, chemical, and trophic characteristics of Piedmont streams in Eastern North America. *Water Science and Technology* 26: 2653-2673.
- Sweeney BW, Schnack JA. 1977. Egg development, growth, and metabolism of *Sigara alternata* (Say)(Hemiptera: Corixidae) in fluctuating thermal environments. *Ecology*: 265-277.
- Tagliaferro M, *et al.* 2013. Dams in the last large free-flowing rivers of Patagonia, the Santa Cruz River, environmental features, and macroinvertebrate community. *Limnologica* 43: 500-509.
- Takahashi S, Badger MR. 2011. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science* 16: 53-60.
- Takahashi S, Murata N. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends in Plant Science* 13: 178-182.
- Team R DC. 2015. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: *R Foundation for Statistical Computing*.
- Torres AD, *et al.* 2015. Seed production and recruitment in primary and harvested *Nothofagus pumilio* forests: Influence of regional climate and years after cuttings. *Forest Systems* 24: 016.

- Uehlinger U, Naegeli MW. 1998. Ecosystem Metabolism, Disturbance, and Stability in a Prealpine Gravel Bed River. *Journal of the North American Benthological Society* 17: 165-178.
- Uehlinger U, Robinson CT, Hieber M, Zah R. 2010. The physico-chemical habitat template for periphyton in alpine glacial streams under a changing climate. *Hydrobiologia* 657: 107-121.
- Uehlinger U, Tockner K, Malard F. 2002. Ecological windows in glacial stream ecosystems. *Eawag News* 54: 20-21.
- Urabe J, Sterner RW. 1996. Regulation of herbivore growth by the balance of light and nutrients. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 93: 8465-8469.
- Valderrama G. 1981. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry* 10 109-122.
- van de Waal DB, *et al.* 2010. Climate-driven changes in the ecological stoichiometry of aquatic ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 8: 145-152.
- Vannote RL, *et al.* 1980. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37: 130-137.
- Vannote RL, Sweeney BW. 1980. Geographic analysis of thermal equilibria: a conceptual model for evaluating the effect of natural and modified thermal regimes on aquatic insect communities. *American Naturalist*: 667-695.
- Veblen TT, Hill RS, Read J. 1996. The Ecology and Biogeography of Nothofagus Forests: *Yale University Press*.
- Velásquez SM, Miserendino L. 2003. Análisis de la materia orgánica alóctona y organización funcional de macroinvertebrados en relación con el tipo de hábitat en ríos de montaña de Patagonia. *Ecología Austral* 13: 67-82.
- 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: L13707.
- Villafañe VE, *et al.* 1999. Inhibition of phytoplankton photosynthesis by solar ultraviolet radiation: Studies in Lake Titicaca, Bolivia. *Freshwater Biology* 42: 215-224.
- Villalba R, *et al.* 1997. Recent trends in tree-ring records from high elevation sites in the Andes of northern Patagonia. *Climatic Change* 36: 425-454.

- Villalba R, *et al.* 2003. Large-scale temperature changes across the southern Andes: 20th-century variations in the context of the past 400 years. *Climatic Change* 59: 177-232.
- Villalba R, *et al.* 1990. Climate, tree-ring, and glacial fluctuations in the Rio Frias Valley, Rio Negro, Argentina. *Arctic & Alpine Research* 22: 215-232.
- Wais I, Bonetto A. 1988. Analysis of the Allochthonous Organic Matter and Associated Macroinvertebrates in Some Streams of Patagonia(Argentina). *Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie. Verhandlungen IVTLAP* 23.
- Wang H, Sterner RW, Elser JJ. 2012. On the “strict homeostasis” assumption in ecological stoichiometry. *Ecological Modelling* 243: 81-88.
- Wang K. 2014. Sampling biases in datasets of historical mean air temperature over land. *Nature Scientific Reports* 4: 4637
- Ward J. 1994. Ecology of alpine streams. *Freshwater Biology* 32: 277-294.
- Webster JR, Patten BC. 1979. Effects of watershed perturbation on stream potassium and calcium dynamics. *Ecological Monographs* 49: 51-72.
- Wetzel RG. 2001. Limnology : lake and river ecosystems. San Diego: *Academic Press*.
- WGMS editor 2012. Fluctuations of Glaciers 2005-2010. World Glacier Monitoring Service, Zurich, Switzerland: *ICSU (WDS) / IUGG (IACS) / UNEP / UNESCO / WMO*.
- Williams MI, Dumroese RK. 2013. Preparing for Climate Change: Forestry and Assisted Migration. *Journal of Forestry* 111: 287-297.
- Williamson GJ, *et al.* 2014. Projecting canopy cover change in Tasmanian eucalypt forests using dynamically downscaled regional climate models. *Regional Environmental Change* 14: 1373-1386.
- Wolfe JE, Lind OT. 2008. Influence of suspended clay on phosphorus uptake by periphyton. *Hydrobiologia* 610: 211-222.
- Wolff EW. 2013. Ice sheets and nitrogen. *Philosophical Transactions - Royal Society of London, B* 368: 20130127.
- Wood PJ, Armitage PD. 1997. Biological effects of fine sediment in the lotic environment. *Environmental Management* 21: 203-217.
- Worni R, *et al.* 2012. Analysis and dynamic modeling of a moraine failure and glacier lake outburst flood at Ventisquero Negro, Patagonian Andes (Argentina). *Journal of Hydrology* 444-445: 134-145.

- Xenopoulos MA, Frost PC, Elser JJ. 2002. Joint effects of UV radiation and phosphorus supply on algal growth rate and elemental composition. *Ecology* 83: 423-435.
- Yamamoto Y, *et al.* 2014. Quality control of PSII: behavior of PSII in the highly crowded grana thylakoids under excessive light. *Plant Cell Physiology* 55: 1206-1215.
- Young KR, Leon B. 2007. Tree-line changes along the Andes: implications of spatial patterns and dynamics. *Philosophical Transactions - Royal Society of London, B* 362: 263-272.
- Zah R, *et al.* 2001. Long-Term Dynamics of the Channel Network in a Glacial Floodplain, Val Roseg, Switzerland. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 33: 440-446.
- Zemp M, *et al.* 2015. Historically unprecedented global glacier decline in the early 21st century. *Journal of Glaciology* 61: 745-762.
- Zhu K, *et al.* 2014. Dual impacts of climate change: forest migration and turnover through life history. *Global Change Biology* 20: 251-264.

APENDICE

Lista de trabajos publicados como parte de la presente Tesis.

Martyniuk N., Modenutti B. y Balseiro E. 2016. Forest structure affects the stoichiometry of Periphyton primary producers in mountain streams of Northern Patagonia. *Ecosystems* 19 (7), 1225-1239.

Martyniuk N., Modenutti B. y Balseiro E. 2014. Can increased glacial melting resulting from global change provide attached algae with transient protection against high irradiance?. *Freshwater Biology* 59 (11), 2290-2302.

Can increased glacial melting resulting from global change provide attached algae with transient protection against high irradiance?

NICOLÁS MARTYNIUK, BEATRIZ MODENUTTI AND ESTEBAN G. BALSEIRO

Laboratorio de Limnología, INIBIOMA, CONICET-UNComahue, Bariloche, Argentina

SUMMARY

1. Climate change is altering temperatures and precipitation patterns all over the world. Melting glaciers increase surface run-off, thereby increasing the transport of suspended solids through streams. The increased load of suspended solids affects turbidity, which decreases the availability of photosynthetically active radiation for primary producers.
2. We analysed how glacial loading of clays influences the light : nutrient ratio and photosynthetic parameters (measured with a pulse amplitude modulated fluorometer) and the carbon : phosphorus (C : P) elemental ratio of periphytic primary producers. A field study was conducted in two canopy-free streams that receive water from the glaciers of Mount Tronador (Patagonia, Argentina), one with high glacial load and the other with clear water. In addition, we conducted an *in situ* colonisation experiment with three different light treatments.
3. We observed that periphytic biomass (chlorophyll *a* and carbon content) in the streams and in the experiment varied directly with turbidity. Moreover, photosynthetic parameters varied similarly because of an increase in the efficiency of electron transfer per open reactive centre in the more turbid stream and a chronic photoinhibition of photosystem II in the clearer stream.
4. Periphytic C : P also varied with turbidity as we observed a decrease in C : P with an increase in light in both streams and in the experiment.
5. Our main conclusion is that an increase in glacial melting with its associated increase in glacial clay load should protect primary producers against high irradiances (photosynthetic active radiation + ultraviolet radiation) in canopy-free streams.

Keywords: C : P ratio, glacial clay, periphytic algae, photosynthetic parameters, turbidity

Introduction

Increased losses in glacier volume due to ice ablation and negative mass balances have affected the global freshwater cycle (Dyrgerov, 2003), with increased air temperature being the major force in glacier change (Wolfe & Lind, 2008). Because glaciers around the globe are melting rapidly (Masiokas *et al.*, 2008), thereby increasing meltwater flux, new questions regarding downstream ecosystems are becoming increasingly important. The meltwater carried by rivers contains large amounts of suspended sediment particles (mainly inorganic clay) that may influence physical, chemical

and biological conditions (Lind, Chrzanowski & Dávalos-Lind, 1997; Uehlinger *et al.*, 2010). This increase in glacial clay causes an increase in total suspended solids that reduces light availability (Modenutti *et al.*, 2000), which in turn affects the distribution of primary producers and herbivores (Hylander *et al.*, 2011; Laspoumaderes *et al.*, 2013; Modenutti *et al.*, 2013). In addition, the amounts of particles vary seasonally and within and among systems (Eisma, 1993; Wood & Armitage, 1997), influencing patterns of photosynthetic fixation of energy by primary producers (Kirk, 1994). In rivers, much of this productivity is associated with stream periphyton (i.e. the attached benthic community that

consists mainly of algae and bacteria) (Dodds *et al.*, 1996). Thus, periphytic phototrophs can be expected to be affected by the decrease in light availability.

Photosynthesis involves numerous biochemical and developmental responses to light that help to optimise photosynthesis and growth (Falkowski & Raven, 2007), including adjustments in absorption cross sections of the antenna systems and changes to the number of reaction centres (Long, Humphries & Falkowski, 1994). In addition, stream periphyton responds very quickly to pulses or constant fluxes of limiting nutrients (i.e. phosphorus) (Davies & Bothwell, 2012). The links between light and phosphorus as two key resources for primary producers are highlighted in the 'light : nutrient hypothesis' (Sterner *et al.*, 1997). This hypothesis predicts that under high-light intensities and low levels of inorganic phosphorus, nutrient limitation of producers becomes more severe, resulting in a biomass with a disproportionate accumulation of carbon (C) relative to phosphorus (P). Light attenuation by glacial clays is of great ecological importance because reduced light penetration directly affects the photosynthetic process in primary producers (Kirk, 1994). Consequently, changes in light conditions can be expected to be reflected by changes in C fixation and the C : P ratio. Primary producers are characterised by variable nutrient contents that result in a plastic balance in the C : nutrient ratio because their elemental composition may reflect their underlying biochemical allocations and ecological strategies (Cross *et al.*, 2005; Elser *et al.*, 2010; Wang, Sterner & Elser, 2012). Thus, it can be expected that in canopy-free streams under low-clay inputs and high irradiance, the C : nutrient ratio will increase, whereas the ratio should decrease as the clay input increases.

Photosystem II (PSII) is a protein complex in the light-dependent reactions of oxygenic photosynthesis and is susceptible to strong light. The effects of strong light are referred to as photodamage or photoinhibition (Allakhverdiev *et al.*, 2005). In particular, the extent of photoinhibition represents a balance between rates of photodamage and the repair of PSII, wherein the latter electron transport (ETR) and ATP synthesis are two important related processes (Murata *et al.*, 2007; Takahashi & Badger, 2011). It has been proposed that most environmental stresses inactivate PSII by inhibiting the mechanisms for repairing photodamage rather than by directly attacking it (Murata *et al.*, 2007). An excess of light would produce an inhibition of the activity of PSII that, in turn, causes a decrease in the overall number of functional reaction centres, thereby contributing to a decrease in the maximum photochemical efficiency of

PSII (Maxwell & Johnson, 2000). Therefore, one of the most important issues for primary producers is the balance between C fixation and photoinhibition. In this sense, migration to deeper levels is a suitable strategy for motile phytoplanktonic cells (Callieri *et al.*, 2007; Ross & Sharples, 2008); however, periphytic primary producers cannot migrate deeper into the water column. In addition, the complexity of the periphytic matrix itself means that light exposure differs at different levels in the substrata (Steinman, 1992). Accordingly, these communities should be dominated by periphytic growth forms that balance the utilisation of light. Consequently, the final stoichiometric composition of periphyton can be expected to result from light and nutrient availability (Hill & Fanta, 2008) and to be related to periphyton diversity and species composition (Dickman, Vanni & Horgan, 2006).

The Patagonian Andes is the largest glaciated area in South America, and in this region, the 0 °C isotherm has moved up 400 m (2300–2700 m) in the last 54 years (Carrasco, Osorio & Casassa, 2008). Thus, glaciers have shown a continuous and maintained recession (Masiokas *et al.*, 2010) towards the altitude where accumulation and melting rates are equal (Schaefer *et al.*, 2013). In particular, glaciers of Tronador Mountain (3554 m.a.s.l.) have receded over the last 30 years (Masiokas *et al.*, 2008), causing an increased input of glacial clay during the warmer months of the year (Iriondo, 1974). Because of the clay load, the streams that drain these glaciers are classified as 'white-waters' (Chillrud *et al.*, 1994). We took advantage of this natural scenario of turbid and clear canopy-free streams, performing a field and experimental study to test the hypothesis that glacial melting would change the light : nutrient ratio for periphytic producers. This outcome would result as a consequence of changes in periphytic photosynthetic parameters due to differences in light, because glacial clay would protect against photoinhibition. Thus, C fixation would be modified as a consequence of climate change that is driving glacier melting that, in turn, would result in differences in the primary producers' stoichiometries.

Methods

Study site

Mount Tronador is the highest mountain in Nahuel Huapi National Park and straddles the border between Chile and Argentina in northern Patagonia (Fig. 1). The dominant bedrock includes volcanic (basalts), granites, and pyritised, silicic metamorphic rocks (Chillrud *et al.*,

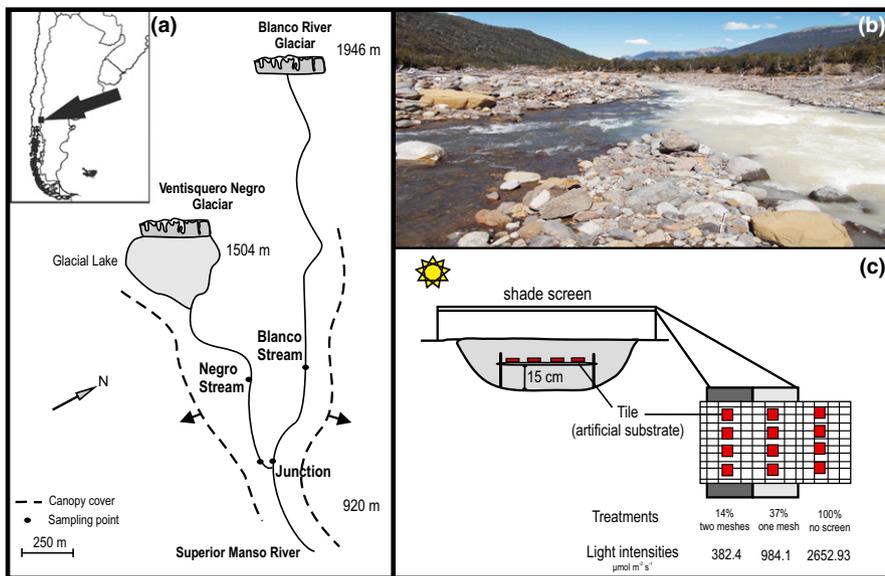


Fig. 1 (a) Location of sampling points in the Negro and Blanco streams. (b) Photograph of the junction of the two streams. (c) Experimental design.

1994). The upper part of the mountain is covered by a continuous ice cap and has 11 outlet glaciers with a total glacier area of approximately 64 km^2 (Masiokas *et al.*, 2010). The glacier that drains into Argentina's Manso River valley flows down the south-eastern flanks of Mount Tronador and several hundred metres below is separated from the ice cap by a steep cliff. This secondary glacier is fed by snow, ice and debris avalanches from the steep slopes above, and due to the thick debris layer that covers large portions of the ice, it is locally known as Ventisquero Negro (the Black Glacier) (Worni *et al.*, 2012). The rapid thinning and recession of the glacial tongue in recent years have resulted in the formation of a large, rapidly growing proglacial lake between the glacier margin and the main moraine ridges (Masiokas *et al.*, 2010). Negro stream, which is characterised by high turbidity due to large discharges of glacial clay, begins at this glacial lake. Blanco stream runs parallel to Negro stream, both being located in the same canopy-free flood plain at 920 m.a.s.l. (Fig. 1a). Blanco stream originates from the Blanco glacier, which is characterised by a low amount of suspended solids (i.e. glacial clays) and therefore has high transparency. The Negro (turbid) and Blanco (clear) streams join to form the Superior Manso River (Fig. 1b).

Periphyton sampling

We sampled the Negro and Blanco streams during the early autumn, spring and summer of 2012–2013 on six sampling occasions. Each stream was sampled at one sampling point located 500 m upstream from the

junction (Fig. 1a). On two occasions, the streams were sampled at another sampling point 2 m upstream from the junction. We measured turbidity (nephelometric turbidity units: NTU) using a portable turbidity meter (Lutron TU-2016, Taipei, Taiwan) and temperature, conductivity and dissolved oxygen with an oxymeter–conductimeter (YSI 85, OH, U.S.A.). In addition, we collected 2 L samples of stream water in acid-washed plastic containers that were transported to the laboratory in thermally insulated containers. For the periphyton study, following Hauer & Lamberti (2007), three stones were randomly selected at each sampling point from a 6-m section of the main channel. On each stone surface, we determined the *in situ* periphytic photosynthetic parameters (qP, Y, NPQ, Y/qP and ETR, see below photosynthetic fluorescence parameters) with a WATER-PAM equipped with a Water-EDF fibre optic unit and WinControl software (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany). After being measured, each stone was individually stored in a plastic bag and immediately carried to the laboratory under dark conditions in thermally insulated containers.

Photosynthetic fluorescence parameters

The photosynthetic parameters were measured with a PAM fluorometer to provide information about the operating conditions of PSII (Fig. 2). A PAM fluorometer typically consists of four light sources that provide quantitatively different radiation, inducing changes in a redox state of components of the electron transport chain and causing chlorophyll fluorescence. We per-

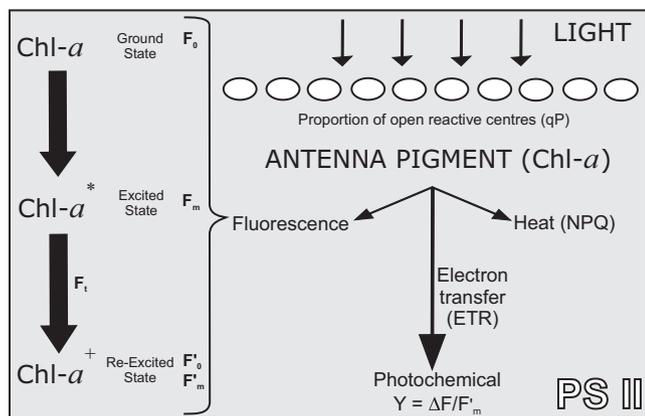


Fig. 2 Simplified three-level scheme of the redistribution of excitation energy of light (heat, photochemical and fluorescence) absorbed by the reaction centre of the light harvesting antenna of PSII. Energy diagram shows the ground state (Chl-*a*), the excited state (Chl-*a*^{*}) and the re-excited state (Chl-*a*⁺), and its fluorescence parameters. See text for further explanation.

formed two types of measurements on each stone: saturating actinic light (SAL), three times per stone, and rapid light curve (LC), one time per stone. SAL is a light pulse of $1004 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and LC measurements were obtained by exposing the samples to blue radiation at nine incremental steps of irradiance ranging from 0 to $1403 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in 10-s intervals. The measurement is initiated by switching on the measuring light, obtaining F_0 (ground state, Fig. 2), which is the level of fluorescence of the antenna pigment (Chlorophyll *a*, Chl-*a*) when all reactive centres of PSII are open. A saturating flash of light is then applied, allowing the measurement of F_m . The steady-state value of fluorescence immediately prior to the flash is termed F_t . After a period of time, another saturating light flash allows recording of the initial minimum fluorescence (F'_0) and maximal fluorescence (F'_m) in the light (Maxwell & Johnson, 2000). These fluorescence values were used to determine the photosynthetic parameters: the effective quantum yield ($Y = (F'_m - F_t) / (F'_m - F'_0)$) of PSII, the electron transport rate ($\text{ETR} = \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), the photochemical quenching ($qP = (F'_m - F_t) / (F'_m - F'_0)$) and the non-photochemical quenching ($\text{NPQ} = F_m - F'_m / F'_m$) (Roháček, Soukupová & Bartak, 2008).

Under high-light exposure, it is expected that qP (the proportion of open reaction centres of PSII) will be lower than under shaded conditions (Fig. 2). In addition, under high-light conditions, the effective quantum yield (Y) will reflect a decrease due to photoinhibition/photodamage, as well as a decrease in the electron transport rate (ETR) (Murata *et al.*, 2007). Therefore, the Y/qP

ratio (i.e. the photosynthetic efficiency per open reactive centre) will show a low value because a high proportion of energy will not be used by PSII. However, the NPQ response is dependent on the light history of the organism (Müller, Xiao-Ping & Niyogi, 2001) because high light generates reactive oxygen species (ROS) that inhibit the repair of PSII by suppressing the synthesis of proteins (Murata *et al.*, 2007).

Laboratory procedures

In the laboratory, periphyton was obtained by scraping individual stones with a brush and rinsing them carefully with distilled water. The final volume obtained was taken to a constant volume (100 mL) and expressed in relation to 2/3 of the total area of the stone (cm^2) (Biggs & Close, 1989), which was estimated from the lengths of the three main axes (Graham, McCaughan & McKee, 1987). The obtained volume was designated for the estimation of chlorophyll *a* (Chl-*a*), C and P concentrations, and algal composition. For Chl-*a* concentration determination, a 1-mL aliquot of the periphyton suspension was filtered through glass fibre filters (GF/F; Whatman™, Maidstone, U.K.). Chl-*a* was extracted in hot ethanol following filtration (Nusch, 1980) and was measured with a 10-AU fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, CA, U.S.A.) with previous calibration against spectrophotometric measurements. Another 5 mL of the suspension was filtered on ashed GF/F filters, dried at 60°C for 48 h and analysed for organic particulate C using a Thermo Finnigan EA 1112 CN elemental analyser (Thermo Scientific, Milano, Italy). The periphyton P concentration was determined by filtering another 5 mL of the suspension onto acid-washed (10% HCl) and ashed GF/F filters and drying them at 60°C for 48 h. The filters were combusted at 550°C for 1 h, ashes were then placed in flasks, and P concentrations were analysed with the ascorbate-reduced molybdenum method (Eaton *et al.*, 2005). Periphyton Chl-*a*, C and P concentrations are reported as mg m^{-2} , with each parameter being estimated in three replicates (three stones). A volume of 20 mL of the periphyton suspension was fixed with acid Lugol's solution for examination of the attached algae.

A volume of 250 mL of stream water from each river for each date was filtered through ashed GF/F filters and analysed for particulate C and N. Total dissolved phosphorus (TDP) and dissolved organic carbon (DOC) were determined for the filtered stream water. DOC was measured with a carbon analyser (Shimadzu TOC VCSH; Shimadzu, Kyoto, Japan). The samples for TDP measurements were digested with potassium

persulphate at 125 °C at 1.5 atm for 1 h, and the concentrations were analysed using the ascorbate-reduced molybdenum method (Eaton *et al.*, 2005). Total nitrogen was estimated following Valderrama (1981). Total suspended solids (TSS) were quantified by filtering 250 mL of stream water through pre-weighed GF/F filters, which were dried for at least 48 h at 60 °C and then reweighed.

Light measurements

Light absorption by suspended clay was measured in two ways. First, we measured light absorption directly with a PUV500B submersible radiometer (Biospherical Instruments, San Diego, CA, U.S.A.) at selected points in the Negro and Blanco streams. We also measured ambient light beside the streams. In addition, unfiltered stream water was scanned with a double beam spectrophotometer (Shimadzu UV 2450, Kyoto, Japan) from 250 to 700 nm; (Merck Millipore, Darmstadt, Alemania) water was used as the blank. The mean absorbance, A , was transformed into a , expressed as m^{-1} , using

$$a = \ln(10A)/L,$$

where L is cuvette length (Morris *et al.*, 1995).

The light attenuation coefficient (K_d) was estimated from the direct light measurements and spectrophotometric scans. The incident light in each sample (I_z), adjusted for turbidity level (spectrophotometric scans of unfiltered water), was calculated from the light attenuation coefficient following Lambert–Beer equation, $I_z = I_0 e^{(-K_d z)}$ (Kirk, 1994), where z is the depth at which the periphyton occurred. Light measurements were expressed as available photosynthetic active radiation (PAR) at stream bottom in $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Field experiment

The effects of a light gradient on primary producers were studied in an *in situ* experiment in the Blanco stream over 2 weeks in the summer (January 2012). We established three different light conditions (full: 100%, medium: 37% and low: 14% of solar radiation). Light quantity was manipulated by reducing irradiance with increasing layers of shade screens to achieve the three levels of incident irradiance: 100% no screen, 37% one mesh, 14% two meshes (Fig. 1c). These meshes were placed 15 cm above the stream surface and were fixed with metal pegs 1 m from the stream margin. Artificial substrata (12 ceramic tiles, 6 × 6 cm) were placed under each treatment 15 cm from the stream bed (to avoid

herbivores) and 15 cm below the stream surface. The experiment was run in four replicates per treatment, and during the experiment, temperatures and stream water levels were monitored with a data logger (U20 HOBO; Onset, Bourne, MA, U.S.A.).

After 2 weeks of exposure to different light conditions, photosynthetic parameters were estimated *in situ* (qP, Y, NPQ, Y/qP and ETR) for each tile with a WATER-PAM equipped with a Water-EDF fibre optic unit. Next, we sampled each tile individually in a plastic container and immediately transported it to the laboratory under dark conditions in thermally insulated containers. In the laboratory, substrata were scraped as previously explained for the natural stones, and the same parameters were estimated.

During this period, the sky was generally cloudless, with maximum daily incident irradiance for PAR of 2784.9 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Maximum incident intensities for ultraviolet radiation (UVR) at 320 and 340 nm were 44.8 and 78.1 $\mu\text{W cm}^{-2} \text{ nm}^{-1}$, respectively. All light intensities were measured with a PUV500B radiometer.

Algal analysis

The attached algae were identified, counted and measured with direct microscopy using 0.0088-mL chambers. Cell dimensions were measured and processed with an image analysis system (Image ProPlus; Media Cybernetics, Warrendale, PA, U.S.A.), and cell volume was estimated by applying average dimensions of a minimum of 20 cells per species per sample to the geometric shape best approximating the cell shape of each species (Sun & Liu, 2003). Filamentous chrysophyte (i.e. *Hydrurus foetidus*) biovolume was based on measurements of individual cells and did not include the mucilaginous envelope. Diatom identification was performed on permanent slides with clean diatom valves mounted on glass slides using Naphrax™ resin.

Statistical analysis and calculations

All data were analysed with Sigma Plot.12 (Systat Software Inc., San Jose, CA, U.S.A.). Depending on sample distribution and variances, we conducted paired-sample *t*-tests (normality of differences and equality of variances) or Wilcoxon's tests (no normality and/or no equality of variances) to detect effects of turbidity on various physicochemical and photosynthetic parameters. To compare the experimental results, we performed one-way ANOVA or Kruskal–Wallis one-way analysis. The

relationships among TSS (mg L^{-1}), turbidity (NTU), irradiance at stream bottom ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Chl-*a* (mg m^{-2}), C : Chl-*a* (g g^{-1}), C : P (atomic) and photosynthetic parameters (qP, Y, NPQ, Y/qP and ETR) were explored using Pearson's correlations and Spearman's rank correlations; when we found significant relationships, we performed linear regressions. When data followed a nonlinear regression, we used dynamic fitting.

Results

The streams

We found significant differences between Negro (turbid waters) and Blanco (clear waters) streams, especially in TSS content (Paired *t*-test; d.f. = 7, $P = 0.004$). The TSS concentration in the Negro stream was sixteen-fold that of the Blanco stream ($50.2 \pm 35.1 \text{ mg L}^{-1}$ and $2.8 \pm 4.0 \text{ mg L}^{-1}$, respectively). We found no difference in TSS concentration between upper and lower sampling points in either stream. Therefore, we pooled all of the data to analyse the turbidity (NTU)–TSS concentration relationship, obtaining a significant positive regression (Fig. 3a). Spectrophotometric scans of unfiltered water showed that clay did not increase the absorption of any specific wavelength and the whole 250–700 nm spectrum was equally reduced by the presence of clay particles. Consequently, UVR varied according to changes in PAR (linear regression $r^2 = 0.94$, d.f. = 7, $P < 0.001$). Accordingly, light availability for periphyton growth was significantly lower in Negro Stream due to the high concentration of suspended clay (Table 1). In addition, we observed changes in turbidity with sampling dates, especially in January (mid-summer) in Negro Stream, while Blanco Stream exhibited a more narrow range

(Fig. 3). In contrast to the observed light conditions, TDP concentrations were similar with no significant differences between streams (Table 1). Accordingly, the TN : TP atomic ratio showed no differences between streams (Negro: 38.4 ± 20.5 ; Blanco: 34.5 ± 12.4). DOC concentrations were also very low, with no significant differences between the streams (Negro: $0.7 \pm 0.1 \text{ mg L}^{-1}$; Blanco: $0.4 \pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$).

Periphyton biomass and elemental ratios

Periphyton biomass (as periphytic C and Chl-*a* mg m^{-2}) varied with sampling period (Fig. 4a); however, there were significant differences between the Negro and Blanco streams. We found a higher Chl-*a* concentration in Negro Stream than in Blanco Stream (12.1 ± 9.3 and $0.6 \pm 0.5 \text{ mg m}^{-2}$, respectively, paired *t*-test, d.f. = 7, $P = 0.005$), showing a direct relationship with turbidity (Fig. 4b). Periphyton carbon concentration was twofold, significantly higher in Negro than in Blanco Stream (65.53 ± 38.12 and $28.14 \pm 19.74 \text{ mg m}^{-2}$, respectively, paired *t*-test, d.f. = 7, $P = 0.028$). The C : Chl-*a* ratio (g g^{-1}) also responded to light conditions, showing an exponential increment as light increased (Fig. 5a). However, differences in periphyton P concentrations were not significant between streams (Table 1). The C : P ratio was significantly higher in Negro Stream (Table 1, Wilcoxon, $n = 8$, $P = 0.008$). Furthermore, we observed that the C : P ratio–light relationship fitted an exponential decay curve (Fig. 5b).

Photosynthetic parameters

Photosynthetic parameters (Fig. 6a) were estimated using the mean of the PAM measurements of the actinic

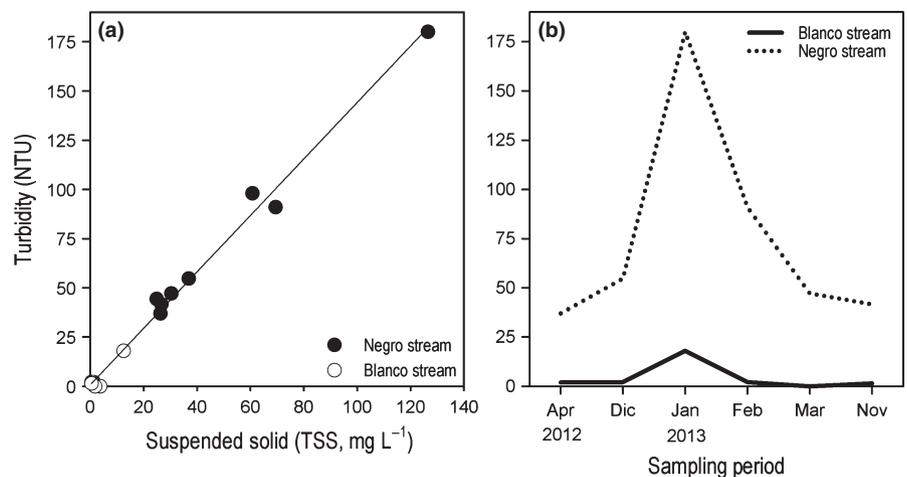


Fig. 3 (a) Relationship between total suspended solid (TSS) and turbidity ($r^2 = 0.99$, d.f. = 15, $P < 0.001$). (b) TSS concentration during the sampling period.

Table 1 Light and nutrient parameters of the Blanco and Negro streams measured on eight dates in the sampling period; additionally, in February and March, we sampled at the junction. The daily dose irradiances were calculated by integrating for the whole day. Light refers to available PAR at stream bottom

	Daily dose irradiance		Light ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		TDP ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Periphytic P (mg m^{-2})		C : P (Atomic)	
	PAR (mol m^{-2})	UV-320 ($\text{kJ m}^{-2} \text{nm}^{-1}$)	Blanco	Negro	Blanco	Negro	Blanco	Negro	Blanco	Negro
12-April	37.6	3.9	2115	1220	19.1	23.9	4.2	8.9	95.6	155.1
12-December	66.5	8.8	2006	885	21.5	29.7	2.0	4.8	134.4	162.4
13-January	60.2	7.0	1420	131	26.0	24.0	5.7	2.6	101.7	778.9
13-February	57.5	6.3	1859	518	6.4	11.8	5.1	9.3	125.6	228.1
			1982	392	5.4	6.4	2.4	6.0	113.9	315.9
13-March	42.9	4.5	1808	969	16.5	18.4	4.8	3.2	157.3	217.4
			2147	959	16.1	16.1	3.6	2.9	165.7	218.3
13-November	51.8	5.8	1894	1152	21.0	22.6	4.2	11.0	146.9	202.3
Mean	51.5	5.9	1903	778	16.5	19.1	4.0	6.1	130.1	284.8
Test			Paired <i>t</i> -test		Paired <i>t</i> -test		Paired <i>t</i> -test		Wilcoxon	
<i>P</i> -value			$P < 0.001$		$P = 0.061$		$P = 0.141$		$P = 0.008$	

TDP, Total dissolved phosphorus.

light pulse for each sampling date in the two streams. Photosynthetic parameters were related to light condition (turbidity) because photosynthetic efficiency per open reactive centre of the PSII (Y/qP) increased as light availability decreased (Fig. 7a). Therefore, photosynthesis was affected by turbidity. The efficiency of light used in the photochemical system ($Y = \Delta F/F'_m$) was significantly higher in Negro Stream than in Blanco Stream (Paired *t*-test, d.f. = 6, $P = 0.008$) as well as the efficiency per open reactive centre (Y/qP , Paired *t*-test, d.f. = 6, $P < 0.001$).

We observed a decrease in NPQ during times of increased light, as shown by an exponential decay curve with increasing light (Fig. 7b). The NPQ was 10.5-fold higher in Negro Stream (Paired *t*-test, d.f. = 6, $P < 0.001$) although Blanco Stream had saturated light conditions. In the obtained light curves, we also observed

differences between the streams in the ETR and the NPQ parameters (Fig. 8). In particular, in Blanco Stream, we found a lower thermal dissipation response (Fig. 8a) and a lower electronic transfer (ETR, Fig. 8b).

Experimental study

During the 2 weeks of experimentation, temperature varied over a narrow range between 9.3 and 12.1 °C (HOBO data logger), TN : TP was 32.4 ± 10.2 and P concentration remained almost invariable (TDP = $14.7 \pm 1.5 \mu\text{g L}^{-1}$). Thus, the main variable in the experiment was light treatment.

In the experimental tiles, periphyton Chl-*a* and C concentrations as well as photosynthetic parameters were related to the experimental light conditions (Fig. 6b). At the end of the experiment, there were differences

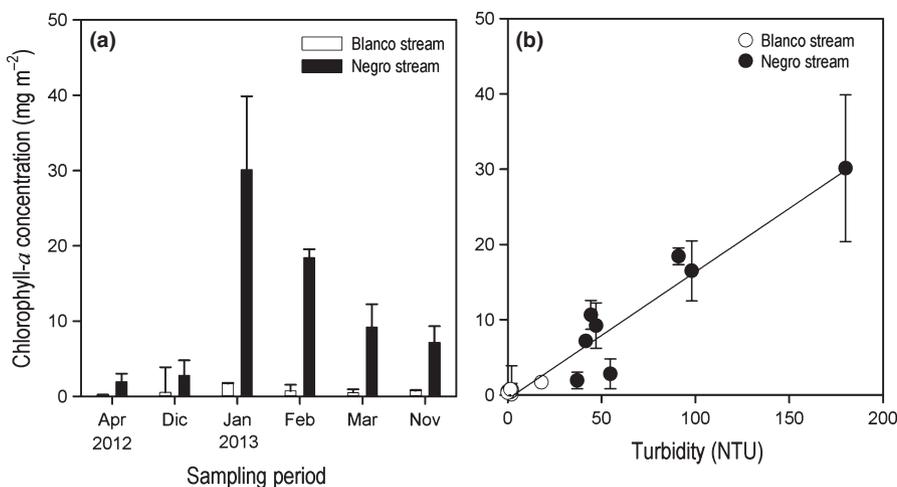


Fig. 4 (a) Periphytic chlorophyll *a* during the sampling period and (b) relationship between turbidity and chlorophyll *a* ($r^2 = 0.91$, d.f. = 15, $P < 0.001$).

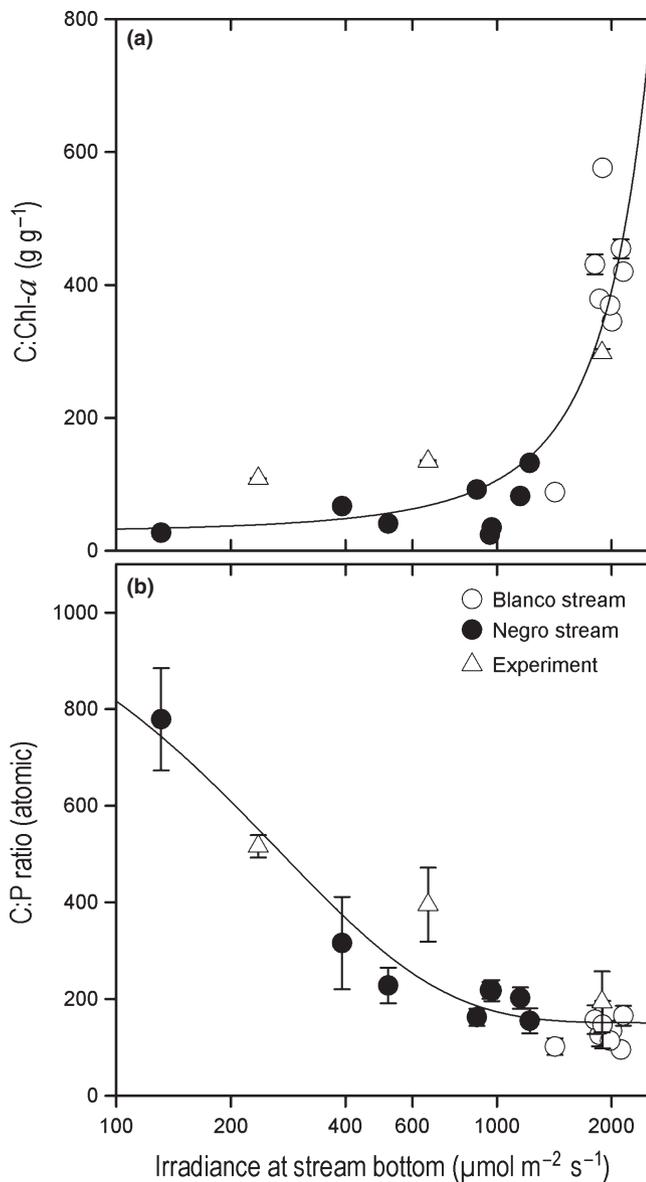


Fig. 5 Relationships between available light and (a) periphytic C : Chl- α ratio ($r^2 = 0.83$, d.f. = 18, $P < 0.0001$) and (b) periphytic C : P ratio ($r^2 = 0.90$, d.f. = 18, $P < 0.0001$).

(one-way ANOVA, $F_{2,9} = 16.4$, $P < 0.001$) in Chl- α concentration (14% light treatment = 2.8 ± 0.3 , 37% = 1.6 ± 0.3 , and 100% = $1.6 \pm 0.3 \text{ mg m}^{-2}$) that were significant between 14% and the others two treatment (100% and 37%, *a posteriori* Tukey's test, $P = 0.002$). We also found significant differences in C concentration among treatments (one-way ANOVA, $F_{2,8} = 33.8$, $P < 0.001$): 14% = $303.4 \pm 34.2 \text{ mg C m}^{-2}$, 37% = $206.3 \pm 18.2 \text{ mg C m}^{-2}$ and 100% of incident light = $140.3 \pm 25.6 \text{ mg C m}^{-2}$ (*a posteriori* Tukey's test, between all pairs $P < 0.05$). The C : Chl- α ratio exhibited significant differences (one-way ANOVA, $F_{2,8} = 31.1$,

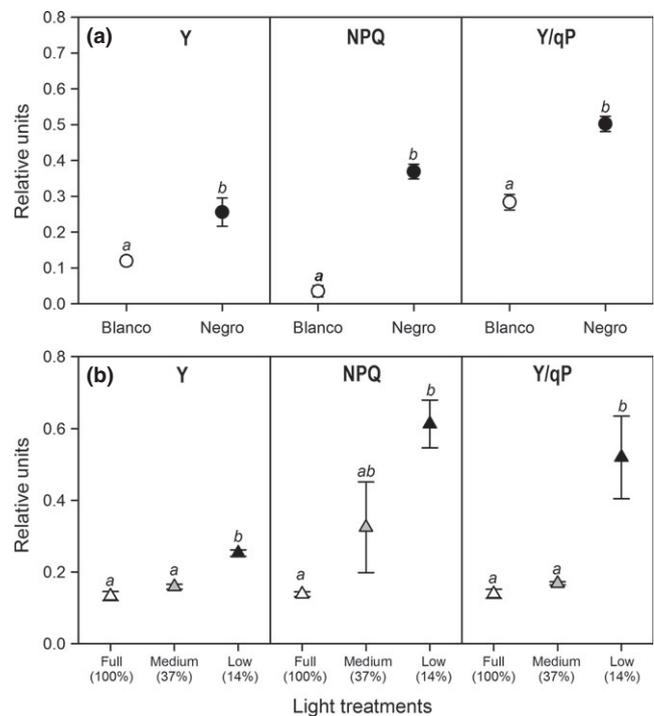


Fig. 6 (a) Photosynthetic parameters (effective quantum yield: $Y = \Delta F/F'_m$, non-photochemical quenching: NPQ, and efficiency of open reactive centre: Y/qP) in the two streams (open circles: Blanco, filled circles: Negro). (b) Photosynthetic parameters in the experimental treatments (open triangles 100% of incident light, grey triangles 37% of incident light and black triangles 14% of incident light). Data are given as means and standard errors.

$P < 0.001$) between the 14% versus the 37% and between the 14% versus the 100% treatments (*a posteriori* Tukey's test, between all pairs $P < 0.001$), with the ratio being higher in the treatment of 100% of incident light, fitting the same exponential curve as the field data (Fig. 5a, see triangles). The periphyton P concentration did not vary among treatments (one-way ANOVA, $F_{2,9} = 1.1$, $P = 0.4$). However, because of the change in periphyton C concentration, we observed significant differences in the C : P ratio (one-way ANOVA, $F_{2,8} = 24.6$, $P < 0.001$, see triangles in Fig. 5b). The full light treatment (100%) differed from the two reduced light treatments (100% versus 14% *a posteriori* Tukey's test, $P < 0.001$; and 100% versus 37% *a posteriori* Tukey's test, $P = 0.006$), whereas there was no significant difference between the 14% and 37% treatments (*a posteriori* Tukey's test, $P = 0.06$).

We observed higher photosynthetic efficiency ($Y = \Delta F/F'_m$) in the 14% treatment (Fig. 6B, one-way ANOVA, $F_{2,9} = 41.5$, $P < 0.001$) and significant differences between the 14% versus the 100% and the 14% versus the 37% treatments (*a posteriori* Tukey's test, $P < 0.001$). The 100%

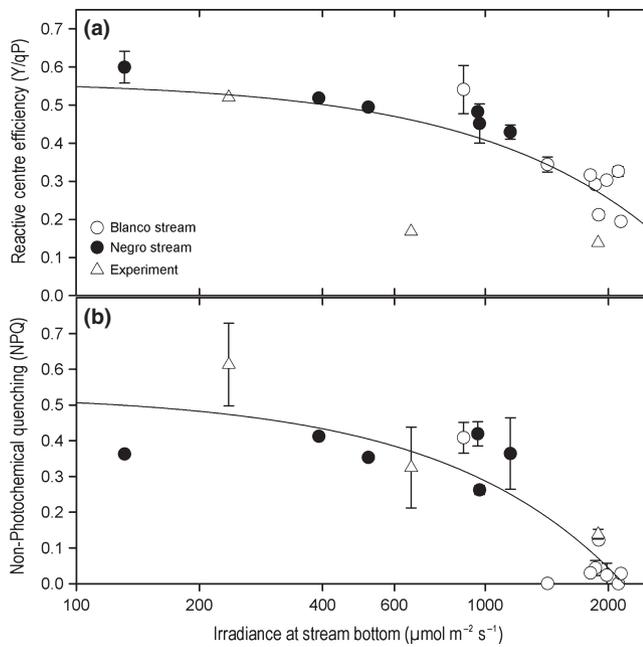


Fig. 7 Relationships between available light and (a) the efficiency per open reactive centre (Y/qP) ($r^2 = 0.54$, d.f. = 16, $P = 0.004$) and (b) heat dissipation (NPQ) ($r^2 = 0.79$, d.f. = 13, $P = 0.0002$).

and the 37% light treatments did not show significant differences (*a posteriori* Tukey's test, $P = 0.2$). A higher efficiency per reactive centre (Y/qP) was also found in the 14% treatment (Fig. 6B, one-way ANOVA, $F_{2,8} = 14.4$, $P = 0.002$), the 14% versus the 100% and the 14% versus the 37% treatments (*a posteriori* Tukey's test, $P < 0.01$). Heat dissipation (NPQ) was higher in the 14% light treatment (one-way ANOVA, $F_{2,8} = 7.07$, $P = 0.02$, *a posteriori* Tukey's test, 14% versus 100% $P = 0.01$).

Attached algal assemblages

Diatoms, chlorophytes and cyanobacteria were the primary constituents of the periphyton in both streams. In the natural substrata of Blanco Stream, the community was a cohesive thin layer dominated by prostrate diatoms, with *Gomphonema intricatum* and *Hannaea* sp. accounting for more than 80% of the biomass throughout the study. On the contrary, filamentous green algae (*Ulothrix* sp.) occurred on the stones of Negro Stream and in early autumn the chrysophyte *Hydrurus foetidus* (Villars) was most prevalent, forming an algal mat (90% of the total biomass). Within this matrix, diatoms such as *Diatoma* sp. and *G. intricatum* were observed. Cyanobacteria were present in both streams but with low contributions to total biomass. Periphyton abundance averaged $6.4 \times 10^4 \pm 5.68 \times 10^4$ cell cm^{-2} in Blanco

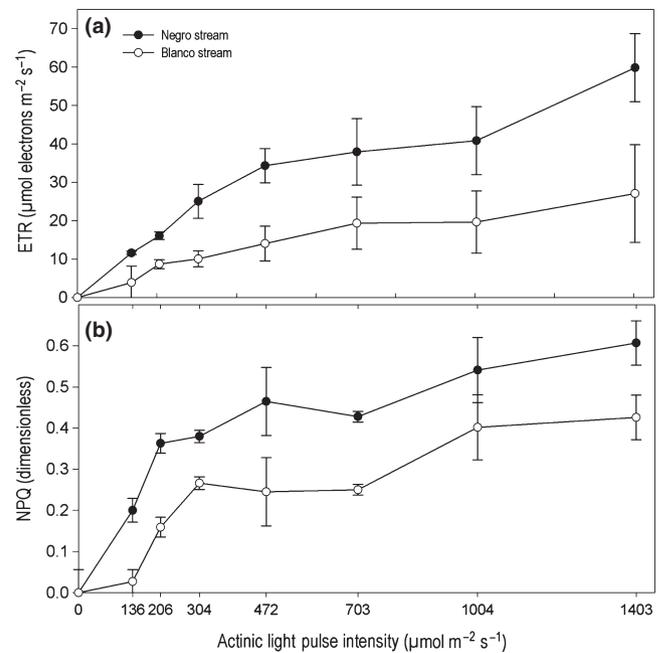


Fig. 8 Rapid light curves in the two streams (all sampling dates were pooled, and values are given as means and standard errors). (a) Non-photochemical quenching (NPQ). (b) Electron transfer rate (ETR) in the PSII.

Stream, whereas periphyton in Negro Stream were more abundant ($1.4 \times 10^5 \pm 7.3 \times 10^4$ cell cm^{-2}).

Ulothrix increased with turbidity (Spearman's $\rho = 0.8$, d.f. = 10, $P = 0.009$) while *Gomphonema* decreased (Spearman's $\rho = -0.8$, d.f. = 10, $P = 0.005$). This change in periphyton species abundance was evident during the summer (January) chlorophyll increase in Blanco Stream, when turbidity increased from 2 to 18 NTU. Over the same period, Negro Stream turbidity increased from 54 to 180 NTU, but no significant changes in periphyton species were registered. There were also differences in species composition between experimental treatments. While *Ulothrix* dominated in the 14% and 37% light treatments, in the full light treatment, we found a thin layer dominated by *Hannaea* sp. and *G. intricatum*.

Discussion

The periphytic primary producers were affected by changes in light conditions due to glacial clay inputs, with a light increase associated with a decrease in Chl-*a*. Variation in glacial flour was the primary regulator of variation in both PAR and UVR attenuation in these glacially fed rivers, as we found that the relative contributions of DOC were negligible because of their very low concentrations. The chlorophyll-light patterns were

observed in both streams (clear and turbid), as well as in the experiment in which only light conditions were manipulated. An increase in Chl-*a* content in the primary producers leads to an increase in photosynthetic efficiency due to low photon availability (Hill, Fanta & Roberts, 2009). As a consequence of low-light availability, autotrophs usually increase chlorophyll (increased antenna size) and increase the PSII reaction centres to enhance light capture and energy transfer (Schansker *et al.*, 2011) or increase the synthesis of membrane-rich chloroplasts (Horton *et al.*, 2008). Indeed, we found less Chl-*a* in Blanco Stream than in Negro Stream, but more important was the increase in the C : Chl-*a* ratio, which reflects a decrease in Chl-*a* per biomass unit in the high-light exposed stream (19.5 times higher Chl-*a* content in Negro than in Blanco Stream). Frost, Hillebrand & Kahlert (2005) reported that more than 60% of samples of periphyton had a C : Chl-*a* ratio above 200 and only 25% had a ratio in excess of 500. Our observed values lay between these limits, in particular those from Blanco Stream and from the full light treatment of the experiment, while Negro Stream values remained below 200.

Our results showed an increase in the efficiency per open reactive centre of PSII under high turbidity, demonstrating that periphyton in Negro Stream had a higher efficiency per open PSII reactive centre than the periphyton in Blanco Stream (Fig. 5b). When light intensity increases above 1000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Murata, Allakhverdiev & Nishiyama, 2012), the rate of repair is reduced, disrupting the photodamage/repair balance, and thus the activity of PSII decreases (Nishiyama, Allakhverdiev & Murata, 2011), as seen in our data. To prevent this, non-photochemical quenching (NPQ) dissipates the excess of captured light as heat (Horton *et al.*, 2008), particularly under moderate excess of light when the accumulated damage in PSII reaction centres is low. Long exposure to high irradiance may cause chronic photoinhibition (Häder *et al.*, 2002) that is characterised by a decrease in photosynthetic electron transport (Critchley & Russell, 1994), due to the promotion of non-assimilatory electron transport to dissipate excess harvested light energy (Schansker *et al.*, 2011; Takahashi & Badger, 2011). This effect of long exposure to high irradiance was evident in Blanco Stream (clear water), where there was almost no dissipation of excess energy through the NPQ and a significant decrease in ETR in the rapid light curves. Therefore, NPQ protects PSII against short-term high-light conditions (Müller *et al.*, 2001; Nishiyama *et al.*, 2011). In this sense, NPQ is a photoprotective process that can prevent damage before it occurs (Murchie & Niyogi, 2011).

Therefore, we were able to identify two different types of photoinhibition: (i) preconditions of low-light availability (Negro Stream) in which excessive excitation energy is dissipated thermally (NPQ) with high-light harvesting by the antenna, and (ii) preconditions of high-light availability (Blanco Stream) caused a decrease in the photosynthetic electron transport (ETR) but with low NPQ due to a low-light harvesting by the antenna. Under high-light conditions, electronic transfer (ETR) decreased significantly to avoid overloading the system with excess photons, which could not be thermally dissipated (NPQ) (Häder *et al.*, 2002; Schansker *et al.*, 2011). In both cases, the PAM pulse consisted of 1004 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, which represents a normal photon flux for Blanco Stream (maximum irradiance at noon was 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), but represents 50% more than maximum at noon of a sunny day for Negro Stream (750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). This means that the photosynthetic machinery of Blanco Stream was prepared for high light and the antenna harvested a low proportion of light, with a low requirement for dissipation and therefore a low NPQ. In contrast, with low-light adaptation in Negro Stream, the antennae were ready to capture a greater proportion of incident light and the pulse resulted in a high dissipation with high NPQ.

Photosynthetic parameters (particularly: $Y = \Delta F/F'_m$ and NPQ) differed between the streams and among experimental treatments in response to turbidity and light intensities. Water turbidity not only reduces light intensity in the PAR spectrum (400–700 nm) but also in the UV range, and it has been shown that both the quantum yield of PSII and C fixation of autotrophs decline with an increase in UV radiation (Villafañe *et al.*, 1999; Modenutti *et al.*, 2004; Leu *et al.*, 2006). We also found under high PAR + UVR intensities in Blanco Stream, and in the full sunlight treatment, a reduction in effective quantum yield (Y) followed by a decrease in efficiency per reactive open centre in the PSII (Y/qP), which decreased the number of absorbed photons.

It might be expected that clay load would affect periphyton negatively (Davies-Colley *et al.*, 1992). However, we observed that increases in clay input were related to a rise in Chl-*a* content in both streams. Thus, if any negative effect of clay abrasion exists, it can be considered negligible compared with the light effect of turbidity. According to the light : nutrient hypothesis (Sterner *et al.*, 1997) and the studies that have reported that the balance between light and nutrients determines algal nutrient content (Fanta *et al.*, 2010), we predicted that glacial clay inputs would decrease the C : P ratio of periphyton. However, we observed the opposite situation, a decrease in C : P with an increase in light in both streams and in the experi-

ment. This result may arise from the influence of solar ultraviolet radiation (UVR) and the higher PAR that reaches the periphyton. In canopy-free streams, such as those in our study, full sunlight (PAR + UVR) reaches the stream surface. On the contrary, in the indoor experiment carried out by Fanta *et al.* (2010), periphyton was exposed to artificial light (without UVR) in the lowest part of the PAR light intensity range of our study. The UVR component of sunlight negatively affects quantum yield and C fixation and, consequently, reduces the C : P ratio of the primary producers (Xenopoulos, Frost & Elser, 2002; Leu *et al.*, 2006). Although it has also been suggested that dissolved organic matter affects periphyton stoichiometry more than UVR (Frost *et al.*, 2007), the studied streams have very low DOC concentrations ($\leq 0.6 \text{ mg L}^{-1}$), an order of magnitude less than that in the Frost *et al.* (2007) study. Patagonian systems receive high UVR due to the Antarctic ozone hole (Häder *et al.*, 2007), and canopy-free streams are particularly exposed because of their shallow depth. In addition, in clear low-order streams with a very low DOC concentration algae are more sensitive to UV stress at low temperature and high PAR (Uehlinger *et al.*, 2010). Suspended clay in a turbid stream would protect algae from photoinhibition as well as from UVR damage to the PSII, as occurred in Negro Stream and in our experiment with a neutral light screen (no UV differential filter). Indeed, when clay concentration increased in Blanco Stream in January, a consequent increase in periphyton Chl-*a* and biomass was observed. The hazardous effect of UVR has also been reported to depend on the biomass of attached algae (McNamara & Hill, 2000) and the vertical structure of periphyton (Hodoki & Ohbayashi, 2005). In this sense, a positive feedback might have occurred in the turbid Negro Stream. The clay load initially would have protected algae from sunlight (including UV); therefore, algae developed into an algal mat that, in turn, allowed new algae to grow, protected by the change in periphyton vertical structure.

Glaciers respond rapidly to climate change, and glacier dynamics directly affect the ecosystems that they feed (Moore *et al.*, 2009). Streams that receive meltwater are particularly vulnerable to global change and associated stressors because they are relatively isolated and fragmented within the terrestrial landscape (Perkins *et al.*, 2010). In a scenario of global warming, with glacial recession taking place all around the world, the transparency of streams receiving melting water will change due to the change in glacial clay load. Depending upon whether clay load increases or decreases, the periphyton of these streams will be modified in many respects, in terms of biomass, Chl-*a* content and also in food quality

for herbivores, because the elemental composition of the biofilm depends on light availability and also on UVR incidence. In the short term, an increase in melting results in an increase in clay load and therefore an increase in algal biomass but of lower food quality. However, in the long term, the clay load in streams will be reduced and, consequently, the effect of a light increase will reduce algal biomass, but high-light incidence, including UVR, will result in higher food quality. The final consequence is that glacial melting may shift periphyton from high C and low quality to low C and higher quality food for higher trophic levels.

Acknowledgments

We thank two anonymous reviewers whose comments and suggestions greatly improved this manuscript. We thank the National Park Administration of Argentina for authorisation to carry out this study. This work was supported by Grant B163 (Universidad Nacional del Comahue) and by Fondo Nacional de Ciencia y Técnica PICT 2011-2240 and PICT 2012-1168. N. M. is CONICET Fellowship and B. M. and E. B. are CONICET researchers.

References

- Allakhverdiev S.I., Tsvetkova N., Mohanty P., Szalontai B., Byoung Y.M., Debreczeny M. *et al.* (2005) Irreversible photoinhibition of photosystem II is caused by exposure of *Synechocystis* cells to strong light for a prolonged period. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, **1708**, 342–351.
- Biggs B.J.F. & Close M.E. (1989) Periphyton biomass dynamics in gravel bed rivers: the relative effects of flows and nutrients. *Freshwater Biology*, **22**, 209–231.
- Callieri C., Modenutti B., Queimaliños C., Bertoni R. & Balseiro E. (2007) Production and biomass of picophytoplankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquatic Ecology*, **41**, 511–523.
- Carrasco J.F., Osorio R. & Casassa G. (2008) Secular trend of the equilibrium-line altitude on the western side of the southern Andes, derived from radiosonde and surface observations. *Journal of Glaciology*, **54**, 538–550.
- Chillrud S.N., Pedrozo F.L., Temporetti P.F., Planas H.F. & Froelich P.N. (1994) Chemical weathering of phosphate and germanium in glacial meltwater streams: effects of subglacial pyrite oxidation. *Limnology and Oceanography*, **39**, 1130–1140.
- Critchley C. & Russell A.W. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in vivo: the role of protein turnover in photosystem II. *Physiologia Plantarum*, **92**, 188–196.

- Cross W.F., Benstead J.P., Frost P.C. & Thomas S.A. (2005) Ecological stoichiometry in freshwater benthic systems: recent progress and perspectives. *Freshwater Biology*, **50**, 1895–1912.
- Davies J.-M. & Bothwell M.L. (2012) Responses of lotic periphyton to pulses of phosphorus: P-flux controlled growth rate. *Freshwater Biology*, **57**, 2602–2612.
- Davies-Colley R.J., Hickey C.W., Quinn J.M. & Ryan P.A. (1992) Effects of clay discharges on streams. 1. Optical properties and epilithon. *Hydrobiologia*, **248**, 215–234.
- Dickman E.M., Vanni M.J. & Horgan M.J. (2006) Interactive effects of light and nutrients on phytoplankton stoichiometry. *Oecologia*, **149**, 676–689.
- Dodds W.K., Hutson R.E., Eiche A.C., Evans M.A., Gudder D.A., Fritz K.M. *et al.* (1996) The relationship of floods, drying, flow and light to primary production and producer biomass in a prairie stream. *Hydrobiologia*, **333**, 151–159.
- Dyurgerov M. (2003) Mountain and subpolar glaciers show an increase in sensitivity to climate warming and intensification of the water cycle. *Journal of Hydrology*, **282**, 164–176.
- Eaton A.D., Clesceri L.S., Rice E.W., Greenberg A.E. & Franson M.A.H. (2005) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association, Washington DC, USA, 1368.
- Eisma D. (1993) *Suspended Matter in the Aquatic Environment*, Springer-Verlag, Michigan, USA, 315
- Elser J.J., Fagan W.F., Kerkhoff A.J., Swenson N.G. & Enquist B.J. (2010) Biological stoichiometry of plant production: metabolism, scaling and ecological response to global change. *New Phytologist*, **186**, 593–608.
- Falkowski P.G. & Raven J.A. (2007) *Aquatic Photosynthesis*, Princeton University Press, New Jersey, USA, 512.
- Fanta S.E., Hill W.R., Smith T.B. & Roberts B.J. (2010) Applying the light: nutrient hypothesis to stream periphyton. *Freshwater Biology*, **55**, 931–940.
- Frost P.C., Cherrier C.T., Larson J.H., Bridgman S. & Lamberti G.A. (2007) Effects of dissolved organic matter and ultraviolet radiation on the accrual, stoichiometry and algal taxonomy of stream periphyton. *Freshwater Biology*, **52**, 319–330.
- Frost P.C., Hillebrand H. & Kahlert M. (2005) Low algal carbon content and its effect on the C:P stoichiometry of periphyton. *Freshwater Biology*, **50**, 1800–1807.
- Graham A.A., McCaughan D.J. & McKee F.S. (1987) Measurement of surface area of stones. *Hydrobiologia*, **157**, 85–87.
- Häder D.P., Kumar H.D., Smith R.C. & Worrest R.C. (2007) Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **6**, 267–285.
- Häder D.P., Lebert M., Sinha R.P., Barbieri E.S. & Helbling E.W. (2002) Role of protective and repair mechanisms in the inhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **1**, 809–814.
- Hauer F.R., Lamberti G.A. (2007) *Methods in Stream Ecology*, Elsevier Inc., China, 877.
- Hill W.R. & Fanta S.E. (2008) Phosphorus and light colimit periphyton growth at subsaturating irradiances. *Freshwater Biology*, **53**, 215–225.
- Hill W.R., Fanta S.E. & Roberts B.J. (2009) Quantifying phosphorus and light effects in stream algae. *Limnology and Oceanography*, **54**, 368–380.
- Hodoki Y. & Ohbayashi K.H. (2005) Species-specific responses of freshwater diatoms to solar ultraviolet radiation. *Archiv für Hydrobiologie*, **162**, 431–443.
- Horton P., Johnson M.P., Perez-Bueno M.L., Kiss A.Z. & Ruban A.V. (2008) Photosynthetic acclimation: does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states? *FEBS Journal*, **275**, 1069–1079.
- Hylander S., Jephson T., Lebert K., Von Einem J., Fagerberg T., Balseiro E. *et al.* (2011) Climate-induced input of turbid glacial meltwater affects vertical distribution and community composition of phyto- and zooplankton. *Journal of Plankton Research*, **33**, 1239–1248.
- Iriondo M. (1974) Modelo de sedimentación en el Lago Mascardi Provincia de Río Negro. *Revista Asociación Geológica Argentina*, **29**, 349–358.
- Kirk J.T.O. (1994) *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*, Cambridge University Press, New York, USA, 509.
- Laspoumaderes C., Modenutti B., Souza M.S., Bastidas Navarro M., Cuassolo F. & Balseiro E. (2013) Glacier melting and stoichiometric implications for lake community structure: zooplankton species distributions across a natural light gradient. *Global Change Biology*, **19**, 316–326.
- Leu E., Wängberg S.-Å., Wulff A., Falk-Petersen S., Børre Ørbæk J. & Hessen D.O. (2006) Effects of changes in ambient PAR and UV radiation on the nutritional quality of an Arctic diatom (*Thalassiosira antarctica* var. *borealis*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **337**, 65–81.
- Lind O.T., Chrzanowski T.H. & Dávalos-Lind L. (1997) Clay turbidity and the relative production of bacterioplankton and phytoplankton. *Hydrobiologia*, **353**, 1–18.
- Long S.P., Humphries S. & Falkowski P.G. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **45**, 633–662.
- Masiokas M.H., Luckman B.H., Villalba R., Ripalta A. & Rabassa J. (2010) Little Ice Age fluctuations of Glacier Río Manso in the north Patagonian Andes of Argentina. *Quaternary Research*, **73**, 96–106.
- Masiokas M.H., Villalba R., Luckman B.H., Lascano M.E., Delgado S. & Stepanek P. (2008) 20th-century glacier recession and regional hydroclimatic changes in northwestern Patagonia. *Global and Planetary Change*, **60**, 85–100.
- Maxwell K. & Johnson G.N. (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, **51**, 659–668.
- McNamara A.E. & Hill W.R. (2000) UV-B irradiance gradient affects photosynthesis and pigments but not food quality of periphyton. *Freshwater Biology*, **43**, 649–662.

- Modenutti B., Balseiro E., Bastidas Navarro M., Laspoumaderes C., Souza M.S. & Cuassolo F. (2013) Environmental changes affecting light climate in oligotrophic mountain lakes: the deep chlorophyll maxima as a sensitive variable. *Aquatic Sciences*, **75**, 361–371.
- Modenutti B., Balseiro E., Callieri C., Queimaliños C. & Bertoni R. (2004) Increase in photosynthetic efficiency as a strategy of planktonic organisms exploiting deep lake layers. *Freshwater Biology*, **49**, 160–169.
- Modenutti B.E., Pérez G.L., Balseiro E.G. & Queimaliños C.P. (2000) The relationship between light attenuation, chlorophyll a and total suspended solids in a Southern Andes glacial lake. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, **27**, 1–4.
- Moore R.D., Fleming S.W., Menounos B., Wheate R., Fountain A., Stahl K. et al. (2009) Glacier change in western North America: influences on hydrology, geomorphic hazards and water quality. *Hydrological Processes*, **1**, 42–61.
- Morris D.P., Zagarese H., Williamson C.E., Balseiro E., Hargreaves B.R., Modenutti B. et al. (1995) The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnology & Oceanography*, **40**, 1381–1391.
- Müller P., Xiao-Ping L. & Niyogi K.K. (2001) Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology*, **125**, 1558–1566.
- Murata N., Allakhverdiev S.I. & Nishiyama Y. (2012) The mechanism of photoinhibition in vivo: re-evaluation of the roles of catalase, α -tocopherol, non-photochemical quenching, and electron transport. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, **1817**, 1127–1133.
- Murata N., Takahashi S., Nishiyama Y. & Allakhverdiev S. (2007) Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1767**, 414–421.
- Murchie E.H. & Niyogi K.K. (2011) Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. *Plant Physiology*, **155**, 86–92.
- Nishiyama Y., Allakhverdiev S.I. & Murata N. (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiologia Plantarum*, **142**, 35–46.
- Nusch E.A. (1980) Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie-Beiheft Ergebnisse der Limnologie*, **14**, 14–36.
- Perkins D.M., Reiss J., Yvon-Durocher G. & Woodward G. (2010) Global change and food webs in running waters. *Hydrobiologia*, **657**, 181–198.
- Roháček K., Soukupová J. & Bartak M. (2008) Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress. *Plant Cell Compartments - Selected Topics*, **2**, 41–104.
- Ross O.N. & Sharples J. (2008) Swimming for survival: a role of phytoplankton motility in a stratified turbulent environment. *Journal of Marine Systems*, **70**, 248–262.
- Schaefer M., Machguth H., Falvey M. & Casassa G. (2013) Modeling past and future surface mass balance of the Northern Patagonia Icefield. *Journal of Geophysical Research F: Earth Surface*, **118**, 571–588.
- Schansker G., Tóth S.Z., Kovács L., Holzwarth A.R. & Garab G. (2011) Evidence for a fluorescence yield change driven by a light-induced conformational change within photosystem II during the fast chlorophyll a fluorescence rise. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1807**, 1032–1043.
- Steinman A.D. (1992) Does an increase in irradiance influence periphyton in a heavily-grazed woodland stream? *Oecologia*, **91**, 163–170.
- Sterner R.W., Elser J.J., Fee E.J., Guildford S.J. & Chrzanowski T.H. (1997) The light: nutrient ratio in lakes: the balance of energy and materials affects ecosystem structure and process. *The American Naturalist*, **150**, 663–684.
- Sun J. & Liu D.Y. (2003) Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, **25**, 1331–1346.
- Takahashi S. & Badger M.R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science*, **16**, 53–60.
- Uehlinger U., Robinson C.T., Hieber M. & Zah R. (2010) The physico-chemical habitat template for periphyton in alpine glacial streams under a changing climate. *Hydrobiologia*, **657**, 107–121.
- Valderrama G. (1981) The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry*, **10**, 109–122.
- Villafañe V.E., Andrade M., Lairana V., Zaratti F. & Helbling E.W. (1999) Inhibition of phytoplankton photosynthesis by solar ultraviolet radiation: studies in Lake Titicaca, Bolivia. *Freshwater Biology*, **42**, 215–224.
- Wang H., Sterner R.W. & Elser J.J. (2012) On the “strict homeostasis” assumption in ecological stoichiometry. *Ecological Modelling*, **243**, 81–88.
- Wolfe J.E. & Lind O.T. (2008) Influence of suspended clay on phosphorus uptake by periphyton. *Hydrobiologia*, **610**, 211–222.
- Wood P.J. & Armitage P.D. (1997) Biological effects of fine sediment in the lotic environment. *Environmental Management*, **21**, 203–217.
- Worni R., Stoffel M., Huggel C., Volz C., Casteller A. & Luckman B. (2012) Analysis and dynamic modeling of a moraine failure and glacier lake outburst flood at Ventisquero Negro, Patagonian Andes (Argentina). *Journal of Hydrology*, **444–445**, 134–145.
- Xenopoulos M.A., Frost P.C. & Elser J.J. (2002) Joint effects of UV radiation and phosphorus supply on algal growth rate and elemental composition. *Ecology*, **83**, 423–435.

(Manuscript accepted 22 July 2014)

Forest Structure Affects the Stoichiometry of Periphyton Primary Producers in Mountain Streams of Northern Patagonia

Nicolás Martyniuk, Beatriz Modenutti & Esteban Balseiro

Ecosystems

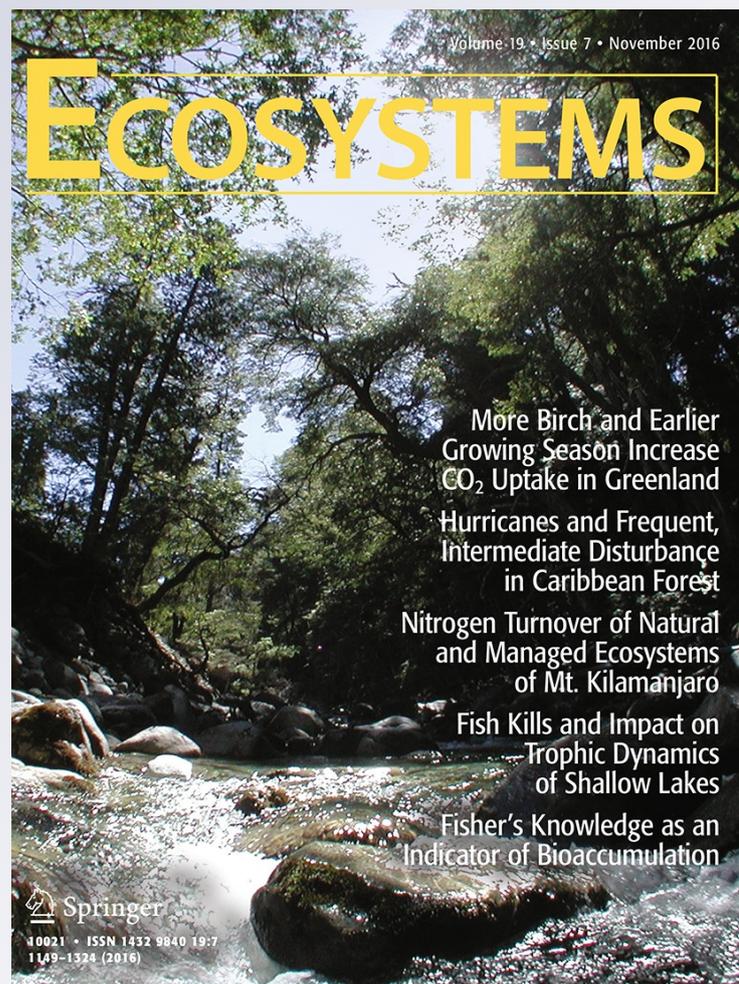
ISSN 1432-9840

Volume 19

Number 7

Ecosystems (2016) 19:1225-1239

DOI 10.1007/s10021-016-9996-8





Forest Structure Affects the Stoichiometry of Periphyton Primary Producers in Mountain Streams of Northern Patagonia

Nicolás Martyniuk,* Beatriz Modenutti, and Esteban Balseiro

Laboratorio de Limnología, INIBIOMA, CONICET-UN Comahue, Quintral 1250, 8400 Bariloche Rio Negro, Argentina

ABSTRACT

Riparian zones are major components of stream ecosystems that influence the physical, chemical, and biological parameters. In particular, the distribution of vertical foliage and the structure of riparian vegetation determine light availability in canopied streams. Here, we analyzed how forest structure will modify light availability and thus affect primary producers' photosynthetic parameters and the periphyton stoichiometry of mountain streams. We carried out field sampling in four streams with different canopies located in the North-Patagonian Andes and conducted a field experiment in which light conditions were manipulated for four months. Then, we linked our results to qualitative climate change scenarios for North-Patagonian forest predicting how future climate change will affect primary producers and periphyton stoichiometry in low-order streams through modifications in the structure of canopied zones. Finally, we found that biomass, photosyn-

thetic parameters and the elemental content of periphyton exhibited a bell-shaped relationship with light availability which was, in turn, dependent on canopy cover. These trends are characterized by an increase from low light up to $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and a decline when light is over $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Thus, intermediate light resulted in optimal conditions for primary producers' photosynthesis; however, these intermediate canopied zones are predicted to decrease in the future. Therefore, we predict changes in stream ecosystem stoichiometry due to variations in primary producers' photosynthesis, and, consequently, periphyton elemental composition as an outcome of forest structure modifications due to climate change.

Key words: canopy; primary producers; photosynthesis; periphyton; stoichiometry; Nothofagus; climate change.

Received 2 November 2015; accepted 10 April 2016;
published online 2 June 2016

Electronic supplementary material: The online version of this article (doi:10.1007/s10021-016-9996-8) contains supplementary material, which is available to authorized users.

Author contribution Nicolás Martyniuk designed the study, performed research, analyzed data, and wrote the paper. Beatriz Modenutti designed the study, analyzed data, and wrote the paper. Esteban Balseiro designed the study, analyzed data, and wrote the paper.

*Corresponding author; e-mail: nmartyniuk@comahue-conicet.gob.ar

INTRODUCTION

Riparian zones are major components of stream ecosystem function since they act as donors for organic matter processing (that is, the River Continuum Concept (Vannote and others 1980) and nutrient recycling [that is, the Nutrient Spiraling Concept (Webster and Patten 1979)]. The structure of the riparian canopy is dynamic, influencing the physical, chemical, and biological dimensions of

streams and mediating a number of terrestrial-aquatic linkages (Sweeney 1992). Forest-stream interactions can be better understood by analyzing these dynamics that control light availability in streams (Stovall and others 2009). The distribution of vertical foliage in riparian vegetation, its horizontal structure (e.g., its patchiness), and the species composition determines the light environment (Montgomery and Chazdon 2001). In addition, light regimes change when deciduous trees species in riparian zone gain leaves in the spring and lose leaves in autumn (Hill and Dimick 2002). Complex canopies often modify light availability by creating low-angle sun flecks that originate from spatially offset canopy gaps. Canopy cover can also vary over time in relation to forest development, the history of disturbances (e.g., fires and blowdown) (Gjerløv and Richardson 2010), and climate (O'Grady and others 2011; Williamson and others 2014).

In Earth's history, climate has played a major role in shaping the growth, composition, and genetic variation of vegetation across different landscapes (Williams and Dumroese 2013). Contemporary changes in our atmosphere have caused global mean temperature trends to increase at values previously experienced in geologic time (Marcott and others 2013); however, the velocity of change appears to be faster than that during similar periods (Williams and Dumroese 2013). Studies have indicated that forests of the world responded to regional climate variations by altering their range and density (Harsch and others 2009; Rehm and Feeley 2013). These shifts in vegetation composition and structure depend on seed dispersal (Rehm and Feeley 2013; Torres and others 2015), geographical barriers (Macias-Fauria and Johnson 2013), and climatic tolerance (Allen and others 2010). Susceptibility to climate change may result in the substitution of canopy species (Young and Leon 2007) and the extinction of particular tree species (Dirnböck and others 2011; Iglesias and others 2012). Therefore, canopy structure and dynamics are expected to be modified under climate change (O'Grady and others 2011; Svenning and Sandel 2013), and this will in turn influence stream periphyton.

Periphyton is defined as a matrix with a complex microorganisms community (algae, bacteria, fungi, protozoa, and small metazoan), organic and inorganic detritus that is attached to dead or living, organic or inorganic substrata (Wetzel 2001; Cross and others 2005). Autotrophs and microbial heterotrophs constitute the basal energy resources that support higher trophic levels in lotic food webs

(Wetzel 2001). The carbon (C):nitrogen (N) and C:phosphorus (P) ratios of periphyton can vary considerably. These variations may be due to differences in the type of organic material with different elemental compositions (Frost and others 2002; Cross and others 2005; Frost and others 2005), variations in the composition of periphyton organisms (Frost and others 2005), or changes in the physiology of algae (Frost and others 2002, 2005; Hillebrand 2005). Studies in experimental streams revealed that light and phosphorus can have a positive effect on stream algae growth, depending on the irradiance level and the enrichment of nutrients (Hill and Fanta 2008; Hill and others 2009). The variation in light availability affects the photosynthetic process of aquatic primary producers. This modulates the carbon (C) fixation rate, which in turn affects the C:nutrient ratio (Sternner and others 1997). Under low-light conditions, primary producers increase their pigment content to maximize photosynthetic capacity and C fixation (Hill and others 2009). Under high light intensities and low levels of inorganic nutrients (primarily phosphorus and/or nitrogen), the biomass of primary producers disproportionately accumulates C relative to nutrients (Frost and others 2002; Sternner and Elser 2002). In addition, Xenopoulos and others (2002) reported that UVR also affects C:N and C:P of primary producers. Finally, if exposure to high-light conditions is prolonged in time C fixation is reduced due to photoinhibition (Takahashi and Murata 2008), consequently the C:nutrient ratio decreases due to a reduction in C fixation (Frost and others 2005; Martyniuk and others 2014).

Treelines are particularly sensitive to changes in temperature regimes (Harsch and others 2009) because the most pronounced changes in temperatures are expected at high altitudes and latitudes (Grigorév and others 2013). Changes in establishment, growth, and survival due to climate change have been described for treelines of different species in the Alps, Himalayas, and Rocky Mountains (Alaska) (Körner 2007; Randin and others, 2013). Thus, it can be predicted that treelines will move upwards (Harsch and others 2009; Donato 2013); however, regional changes in climate would determine the final treeline location (Macias-Fauria and Johnson 2013; Paulsen and Körner 2014). At a global scale, climate change will enhance open canopies with patches of closed forest (Svenning and Sandel 2013; Zhu and others 2014). Thus, the more sensitive ecosystems would be low-order streams located at the upper altitudinal limit of trees. In these ecosystems, substantial changes in

forest structure associated with downward and upward shifts in treelines are expected.

The North Patagonian Andes (at approximately 40°S) does not exceed 2500 m a.s.l.; treeline is located at approximately 1600 m a.s.l. (Villalba and others, 1997). The treeline near 40°S in Chile and Argentina is very dynamic and consists of the austral beech *Nothofagus pumilio* (Daniels and Veblen 2004). Previous studies have indicated that climate change will modify the treeline location because the establishment and growth of seedlings are highly dependent on rainfall seasonality (Magnin and others 2014; Álvarez and others 2015), summer temperature (Massaccesi and others 2007; Magnin and others 2014), and solar radiation (Martínez Pastur and others, 2011). Periods of drought/heat increase mortality, which will result in forest migration and/or retraction (Suarez and Kitzberger 2010). This forest dynamic will affect organic matter and nutrient input to North-Patagonian Andean streams (Díaz Villanueva and others 2016) that are characterized by very low nutrient concentrations (Pedrozo and others 1993; Modenutti and others 2010) and are free of anthropogenic pollution (Markert and others 1997). Here, we analyzed how *Nothofagus* forest

structure will modify light availability and thus affect photosynthetic parameters and stoichiometry of periphyton of mountain streams. We carried out field sampling in streams with different canopies and conducted a field experiment in which light conditions were manipulated. We hypothesized that periphyton photosynthesis and stoichiometry in low-order streams will be affected by modifications in forest structure.

METHODS

Study Streams

We sampled four mountain streams (Fresco, van Titter, Goye, and López) located at 41°S, 71°W in Nahuel Huapi National Park (Patagonia, Argentina) (Figure 1A). These streams receive water from precipitation and snow meltwater (total annual precipitation is 1500–2500 mm). The maxima discharges occur in May austral fall-winter (rain) and October spring (snowmelt); the lowest discharges occur in late summer (April). The substrate of all streams was dominated by boulders and cobbles. Headwaters are approximately located at 2000 m a.s.l. (Table 1). The low-order streams downhill are

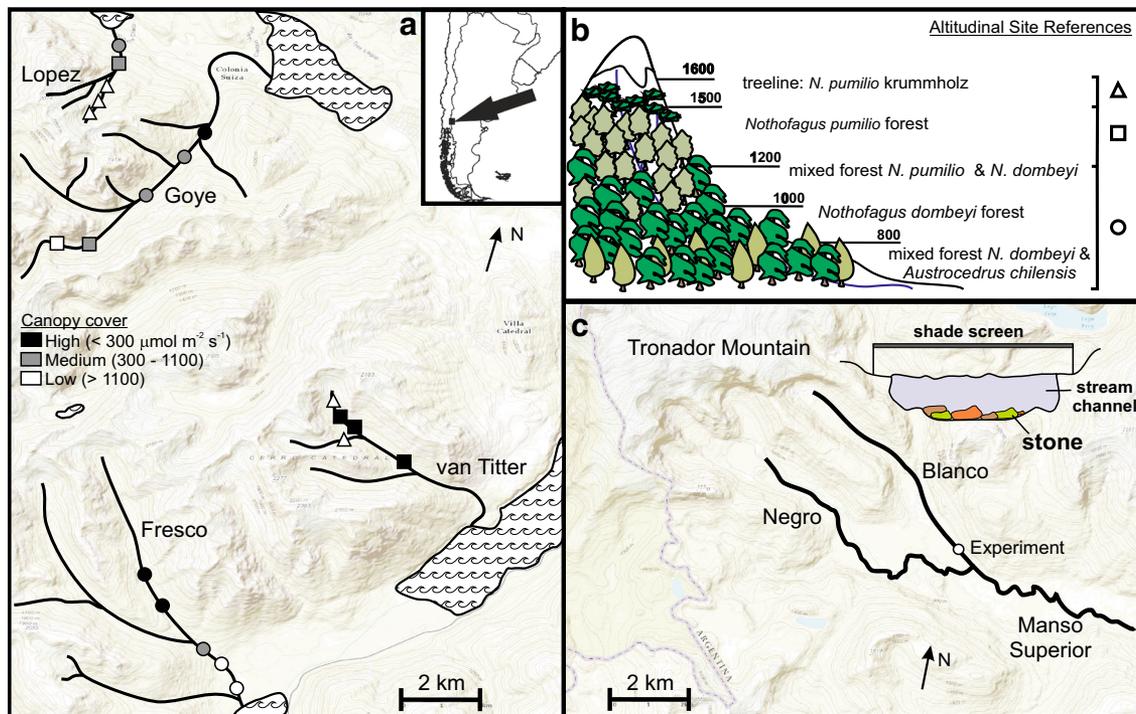


Figure 1. **A** Location of the four sampled streams and the positions of each sampled point. Note that every sampled point had a visual reference of canopy cover (light availability) and altitudinal composition of North Patagonian forest. **B** Scheme of altitudinal gradient of North Patagonian forest. **C** Location of experiment and its design.

Table 1. Physicochemical Parameters of van Titter, Fresco, Goye, and Lopez streams Measured on Five Sampling Points (\pm SD), and During Experiment on Blanco Stream

	Temperature (°C)	Turbidity (NTU)	TSS (mg l ⁻¹)	DOC (g l ⁻¹)	TDP (µg l ⁻¹)	TDN (µg l ⁻¹)	Conductivity (µS cm ⁻¹)	Dissolved Oxygen (mg l ⁻¹)	K _d (m ⁻¹)	HeadW (m)	Area (km ²)	MD (m)	FA (m)
van Titter	13.0 ± 2.1 ^a	0.6 ± 0.6 ^b	0.5 ± 0.1 ^{ns}	0.8 ± 0.4 ^{ns}	7.8 ± 1.0 ^a	122.6 ± 36.6 ^a	11.4 ± 1.9 ^b	11.1 ± 1.1 ^{ns}	0.7 ± 0.4	2100	14.6	978	3911
Goye	10.8 ± 0.6 ^b	0.4 ± 0.2 ^b	0.2 ± 0.1 ^{ns}	0.7 ± 0.1 ^{ns}	2.2 ± 0.9 ^b	84.1 ± 25.2 ^a	19.5 ± 7.0 ^b	9.8 ± 1.5 ^{ns}	0.3 ± 0.1	1945	32.2	1510	6038
Lopez	8.4 ± 0.9 ^c	0.7 ± 0.6 ^b	1.3 ± 1.4 ^{ns}	0.9 ± 0.5 ^{ns}	2.4 ± 0.7 ^b	55.6 ± 16.7 ^b	13.9 ± 9.5 ^b	9.7 ± 0.7 ^{ns}	0.2 ± 0.1	2027	4.34	643	2573
Fresco	9.0 ± 0.2 ^c	1.6 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.3 ^{ns}	0.7 ± 0.2 ^{ns}	3.3 ± 0.9 ^b	42.2 ± 12.7 ^b	42.9 ± 0.2 ^a	10.8 ± 3.3 ^{ns}	0.2 ± 0.2	1924	34.9	594	2377
ANOVA p value	p = 0.004	p = 0.01	p = 0.11	p = 0.67	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p = 0.41					
Blanco (experiment)	8.9 ± 1.8	4.1 ± 1.0	4.9 ± 2.3	0.4 ± 0.2	9.6 ± 4.8	51.3 ± 14.9	19.5 ± 1.8	9.7 ± 1.0	0.7 ± 0.3	1229	8.3		

We only show in the following table the results of comparisons between streams (a posteriori Tukey test); p values correspond to nested ANOVA TSS total suspended solids, DOC dissolved organic carbon, TDN total dissolved nitrogen, TDP total dissolved phosphorus, K_d light extinction coefficient. The geographic parameters: HeadW headwater altitude, Area watershed area. Significant differences on Tukey test were under p < 0.05. Mean distance between sites (MD) and the distance between further affield sites (FA) were estimated among the same stream.

canopied by a stunted form (*krummholz*) of the deciduous austral beech *Nothofagus pumilio* (Villalba and others, 1997). Between elevations of 1200 and 1500 m, *N. pumilio* trees increase in importance and form dense and pure stands. At 1200–1000 m, the altitudinal belt vegetation changes to mixed stands with the evergreen species *Nothofagus dombeyi* (Veblen and others 1996). Below 1000 m, *N. dombeyi* dominates the temperate forest. At approximately 800 m, *N. dombeyi* is mixed with the Andean cedar *Austrocedrus chilensis*. The area is free of anthropogenic pollution and aerosol depositions (Markert and others 1997; Mladenov and others 2011).

During the summer (February–March 2014), we collected samples at 20 sampling sites (five at each stream, Figure 1). All streams were sampled within two weeks thus; we assumed a similar successional algal stage. These sites represented a wide range between open and closed riparian conditions along the studied streams (the stream widths were < 10 m) (Table 1). Sampling stations that represent different types of riparian conditions were chosen based on aerial photographs (taken from Google Earth®) and preliminary visual observations. The dominant canopy species at these sites included the following three species: *N. pumilio*, *N. dombeyi*, and *A. chilensis* (Figure 1 B).

Sampling Procedures

At each sampling site, we measured turbidity (in nephelometric turbidity units; NTU) using a portable turbidity meter (Lutron TU-2016, Taipei, Taiwan). Temperature, conductivity, and dissolved oxygen were measured using an oxymeter-conductimeter (YSI 85, Ohio, USA). Each determination was carried out three times per site. We collected 1 l of stream water in acid-washed plastic containers, which were transported to the laboratory in thermally insulated containers for nutrient concentration measurements. In addition, four stones were randomly selected at each sampling site from a 6-m section of the main channel. On each stone surface, we determined the in situ periphytic photosynthetic parameters using a WATER-PAM (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany) equipped with a Water-EDF fiber optic unit. After being measured, each stone was individually stored in a plastic bag and immediately carried to the laboratory under dark conditions in thermally insulated containers. All the sampling stations at each stream were sampled on the same day.

Light Measurements

To measure the light environment over the canopied streams, we estimated the direct site factor (DSF) using digital hemispheric canopy photographs (Anderson 1964). The DSF is an approximation of the below-canopy light history at a specific site, which is associated with canopy openness (values range between 0-closed and 100-open). Hemispherical photographs were taken over the center of the stream channel using a CoolPix 995 digital camera (Nikon) equipped with a fisheye lens that provides a 180-degree view (FCE8, Nikon). The camera was mounted on a tripod set as low (<1 m) as possible over the surface of the water. The photographs taken during sampling were examined using WinSCANOPY™ software (Regent Instruments Inc., Canada) to calculate below-canopy light metrics. The light measurements were taken during the summer to reduce the effect of deciduous *N. pumilio* trees and different size leaves. Light measurements (five replicates) were taken within 2 h around noon.

Direct light (photosynthetic active radiation, PAR; that is, 400–700 nm) availability at the stream surface and at a depth of about 15 cm (stream bottom) was measured with an Armour SL-125 portable radiometer (Biospherical Instruments Inc., San Diego, CA, USA). The light attenuation coefficient (K_d) was calculated according to the following equation:

$$K_d = \frac{\ln(E_2/E_1)}{\Delta z}, \quad (1)$$

where E_2/E_1 is the ratio of irradiances at depth $z_2 = 0.15$ m to that at $z_1 = 0$; that is, the irradiance transmittance over depth interval $\Delta z = z_1 - z_2$. K_d was estimated from the direct light measurements (Table 1). Light measurements were expressed as available photosynthetic active radiation (PAR) at stream bottom in $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (hereafter Underwater Light).

Photosynthetic Fluorescence Parameters

Photosynthetic parameters were measured in situ five times per stone at a saturating actinic light (SAL) measurement of $1004 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ with a PAM-fluorometer. The fluorescence measurements started with F_0 (ground state, previous light conditions), which is the level of fluorescence of the antenna pigment (chlorophyll *a*) when all reactive centers of PSII are open. SAL was then applied, and the maximal fluorescence level was achieved (F_m). The steady-state value of fluores-

cence immediately prior to the flash is termed F_t . After a period of time, another SAL allowed for the estimate of the initial minimum fluorescence (F'_0) and maximal fluorescence (F'_m) (Maxwell and Johnson 2000).

All these fluorescence values were used to determine the following photosynthetic parameters (Mackey and others 2008; Roháček and others 2008):

electron transport rate ($\text{ETR} = \mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$),

photosynthesis efficiency ($Y = \frac{F'_m - F_t}{F'_m} = \frac{\Delta F}{F'_m}$) of PSII (also known as PSII efficiency),

photochemical quenching ($qP = \frac{F'_m - F_t}{F'_m - F'_0}$),

and non-photochemical quenching ($\text{NPQ} = \frac{F_m - F'_m}{F'_m}$).

Increased light availability produces a reduction in the proportion of open reaction centers of PSII (qP). This change will be reflected in a decrease of the photosynthesis efficiency (Y) due to photoinhibition (light-induced damage on PSII), as well as a decrease in the electron transport rate (ETR) (Murata and others 2007). Therefore, the Y/qP ratio (that is the photosynthetic efficiency per open reactive center) will be low because there are great amounts of energy that will not be used by PSII. Contrariwise, the NPQ response is dependent on the light history of the organism (Müller and others 2001). NPQ is highly efficient in case of short-term light stress, but under prolonged high-light conditions is less relevant. Changes that occur in thylakoid membrane generate reactive oxygen species (ROS) that inhibit the repair of PSII by suppressing the synthesis of proteins (Murata and others 2007; Yamamoto and others 2014).

Laboratory Procedures

A 500 ml aliquot of stream water from each sampling site was filtered through ashed GF/F filters approximately $0.7 \mu\text{m}$ pore size. Total dissolved phosphorus (TDP), total dissolved nitrogen (TDN), and dissolved organic carbon (DOC) were determined for the filtered stream water. DOC and TDN were measured with a carbon–nitrogen analyzer (Shimadzu TOC-VCSH, with TN-M1, Kyoto, Japan). The samples used for TDP measurements were digested with potassium persulfate at 125°C at 1.5 atm for 1 h; the concentrations were analyzed using the ascorbate-reduced molybdenum method (Eaton and others 2005). The total suspended solids (TSS) were quantified by filtering 500 ml of stream water through pre-weighed GF/F filters, which were dried for at least 48 h at 60°C and then reweighed.

Periphyton was obtained by scraping the individual stones with a brush and rinsing them carefully with distilled water in the same day of sampling. The final volume obtained was adjusted to a constant volume (100 ml); the area (cm^2) scraped on the stone was estimated from the lengths of the three main axes (Graham and others 1987). This volume was designated for the estimation of chlorophyll *a* (Chl-*a*), C, and P concentrations based on one filter for each determination and analyzing in all cases the whole filter. To determine the Chl-*a* concentration, a 1-ml aliquot of the periphyton suspension was filtered through glass fiber filters (GF/F, Whatman™, Maidstone, UK). After the filtration step, Chl-*a* was extracted in hot ethanol (Nusch 1980) and measured with a 10-AU fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, CA, USA) previously calibrated against spectrophotometric measurements. Another 5 ml of the suspension was filtered through ashed GF/F filters, dried at 60°C for 48 h, and analyzed for particulate C using a Thermo Finnigan EA 1112 CN elemental analyzer (Thermo Scientific, Milano, Italy). The periphyton P concentration was determined by filtering another 5 ml of the suspension through acid-washed (10% HCl) and ashed GF/F filters, which were then dried at 60°C for 48 h. The filters were then combusted at 550°C for 1 h. The ashes were then placed in flasks, and the P concentrations were analyzed using the ascorbate-reduced molybdenum method (Eaton and others 2005). Periphyton Chl-*a*, C, and P concentrations were reported as mg m^{-2} . Each parameter was estimated using 4 replicates (4 stones per site).

Field Experiment

The field experiment was designed to measure periphyton responses to manipulated light conditions in a free canopy stream using a neutral shade screen. The experiment was located at Blanco stream (920 m.a.s.l., Figure 1C; Table 1) and conducted over 106 days during austral summer (December 2013–April 2014). The following two treatments were performed: full light (mean irradiance of $1729 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, up to $2414 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at noon during sunny days) and low light (neutral shade screen; mean irradiance of $335 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, up to $497 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at noon). The low-light treatment was achieved using a neutral screen that covered the entire width of the stream and 15 m in length. The screen was placed 15 cm above the stream surface and fixed with metal pegs 1 m away from the stream margin. This experiment was carried out during the period of low water flow

(summer), and no hydrological changes (HOBO datalogger) were observed during the experiment. Daily light measurements were obtained from a meteorological station located 20 km from the experiment site and were corrected by periodically (every 2 weeks) direct measurement.

During the experiment, TDN, DOC, TSS, conductivity, turbidity, temperature, and dissolved oxygen were measured (Table 1). Stream temperatures and water levels were recorded using a data logger (U20 HOBO; Onset, Bourne, MA, U.S.A.). On five sampling occasions, we randomly selected four stones per treatment (full-light and low-light treatments). We estimated the in situ photosynthetic parameters (qP, Y, NPQ, Y/qP, and ETR) for each stone using a WATER-PAM equipped with a Water-EDF fiber optic unit. We collected each stone individually in a thermally insulated plastic container and immediately transported it to the laboratory under dark conditions. In the laboratory, substrata were scraped as previously described and the same parameters were then estimated.

Statistical Analysis

We compared the two methods of light measurement (that is, radiometer and hemispherical photography measurements) which were used to determine canopy openness and underwater (15 cm depth) light availability. We carried out two-way ANOVA to analyze the light availability among sites ($N = 5$) and streams ($N = 4$). A cluster analysis was used to group similar light conditions. Based on these results, we established three levels of canopy cover corresponding to light intensity. Each sampling point was classified using one of these levels. We then applied nested ANOVA and an a posteriori Tukey's test using R (Team 2015) to compare the limnological features (TSS, DOC, TDP, TDN, conductivity, turbidity, temperature, and dissolved oxygen) of the streams, with sampling points nested to streams. Each sampling point was a mean of four replicates (stones).

We generated Generalized Linear Mixed Models (GLMM) that assumed a normal error distribution with a log link function using R (Team 2015) to relate periphyton to the obtained variables: geographic course of the stream, altitude, turbidity, DOC, TDP, TDN, temperature, conductivity, dissolved oxygen, and radiance. We considered all the obtained variables and not highly correlated with each other (with Pearson's product-moment correlations among environmental variables <0.60). We considered all combinations of the seven predictors and the streams as a random factor with

four levels (to address the non-independence of data within each stream). We selected the model that best described primary producer biomass (Chl-*a* concentration) and applied Akaike's information criterion (AIC). For each model, we calculated the corrected AIC (AICc) value, which measures the model fit while correcting for small sample sizes. All the candidate models were ranked according to their AICc value, with the best model having the smallest AICc value. We then calculated ΔAICc , which is the difference between each model and the best-fit model within the model set. We used a set of the best supported models based on a model criterion of ΔAIC less than 2. After we determined the variable/s that were meaningful for the periphyton primary producers, we analyzed the relationship between the variable/s of the model with best AICc value and the response variables (that is, periphyton C, Chl-*a* concentration, periphyton C:P ratio, and photosynthetic parameters). We explored the relationships using Pearson's correlations; when significant relationships were found, we performed linear regressions and curve fitting. In all cases, normality and homoscedasticity were previously verified.

RESULTS

Streams

The different sampling sites along the four sampled streams differed in canopy cover (DSF ranged from 10 to 98) and underwater light availability (57–2589 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Figure 1). Light availability varied significantly among sites (two-way ANOVA, $F_{4,12} = 10.8$, $p < 0.001$). The cluster analyses (see Supplementary Material, S1) between stream sites revealed the following three groups according to underwater light conditions and canopy cover of sampling sites: low-light availability (from 0 to 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, high canopy), intermediate-light availability (from 300 to 1100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and high-light availability (from 1100 to

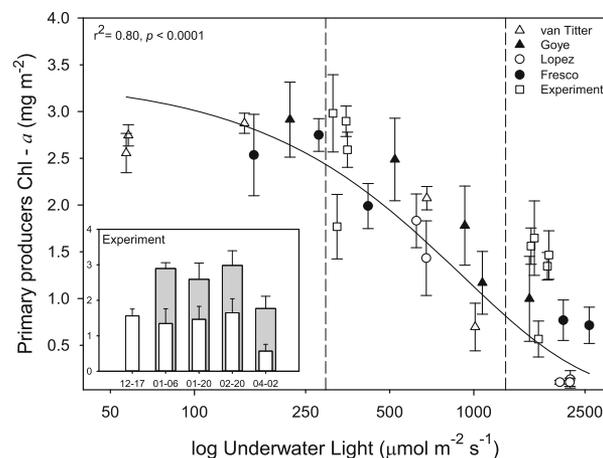


Figure 2. Relationship between periphyton Chl-*a* concentration and underwater light (15 cm depth). Data are given as the mean (four replicates -stones-) and standard error. *Nested graph* experimental results by sampled date (month-day): low-light (gray) and full-light (white) treatment. All treatment differences were significant at $p < 0.001$. Vertical lines show the 3 groups of light/canopy.

2600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, low canopy). We compared direct measurements of underwater light (15 cm depth, log transformed) with measurements of below-canopy light (DSF) and found a significant correlation between both parameters (linear regression, $r^2 = 0.90$, $n = 20$, $F_{1,19} = 163.5$, $p < 0.001$). Therefore, the light availability represented different canopy covers. The understory light resulted from canopy cover as we did not find differences in light measurements between *N. pumilio* and *N. dombeyi* canopies. The total suspended solid (TSS) and dissolved organic carbon (DOC) concentrations were low (Table 1) and did not affect light availability.

Other limnological variables did not differ among sampling streams and sites. All streams exhibited low values of turbidity (0–1.82 NTU) and conductivity (11–42 $\mu\text{S cm}^{-1}$) (Table 1). However, the Fresco stream presented significantly higher tur-

Table 2. Best Approximating Models ($\Delta\text{AIC} < 2$) for Predicting Periphyton Biomass (chlorophyll *a*) in Mountain Streams (van Titter, Fresco, Goye, and Lopez)

Model-variables	r^2	AIC _c	ΔAIC	w_i	K
Underwater light (UL)	0.62	38.130	0	0.383	1
UL + turbidity	0.65	39.134	1.004	0.141	3
UL + temperature + turbidity	0.71	39.918	1.788	0.092	3

Intercept and error terms were also included in all models

AIC Akaike's Information Criterion. k indicates the number of parameters. ΔAICc is the difference between the AICc value and the lowest AICc value. w_i is the relative likelihood that the model is the best approximating model.

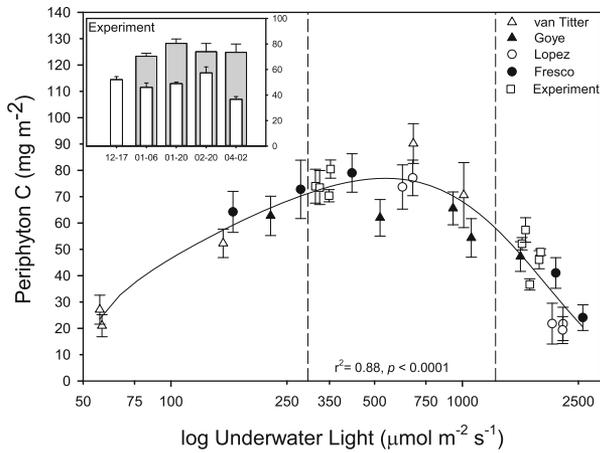


Figure 3. The relationship between periphyton C concentration and underwater light (15 cm depth) showed a bell-shaped curve. Data are given as the mean (four replicates -stones-) and standard error. *Nested graph* experimental results by sampled date (month-day): low-light (*gray*) and full-light (*white*) treatment. All treatment differences were significant at $p < 0.001$. Vertical lines show the 3 groups of light/canopy.

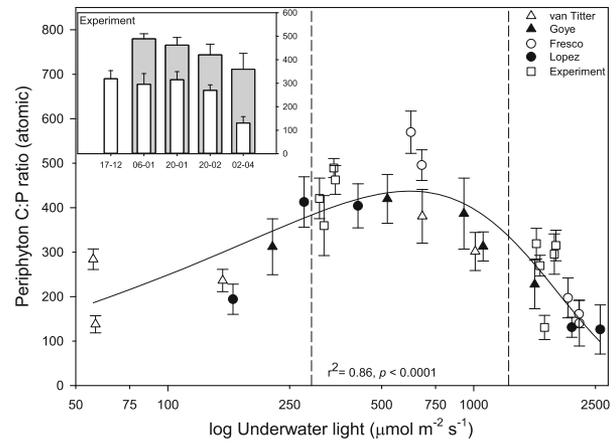


Figure 5. The relationship between periphyton C:P (atomic) and underwater light (15 cm depth) showed a bell-shaped curve. Data are given as the mean (four replicates -stones-) and standard error. *Nested graph* experimental results by sampled date (month-day): low-light (*gray*) and full-light (*white*) treatment. All treatment differences were significant at $p < 0.001$. Vertical lines show the 3 groups of light/canopy.

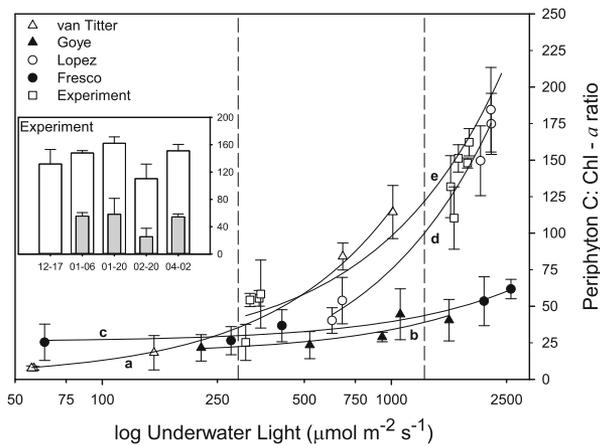


Figure 4. Relationship between periphyton C:Chl-*a* ratio and underwater light (15 cm depth). Linear regressions: **a** Lopez ($r^2 = 0.99$, $p = 0.0007$), **b** van Titter ($r^2 = 0.99$, $p < 0.0001$), **c** Fresco ($r^2 = 0.96$, $p = 0.003$), **d** Goye ($r^2 = 0.72$, $p = 0.04$) and **e**. Experiment ($r^2 = 0.93$, $p < 0.0001$). Data are given as the mean (four replicates -stones-) and standard error. *Nested graph* experimental results by sampled date (month-day): low-light (*gray*) and full-light (*white*) treatment. All treatment differences were significant at $p < 0.001$. Vertical lines show the 3 groups of light/canopy.

bidity values (nested ANOVA, $F_{3,10} = 9.31$, $p = 0.003$; a posteriori Tukey's tests between all pairs were significant at $p < 0.05$) and conductivity values (nested ANOVA, $F_{3,10} = 53.6$, $p < 0.001$; a posteriori Tukey's tests between all pairs were

significant at $p < 0.001$). Canopy cover did not affect turbidity (nested ANOVA, $F_{2,10} = 2.8$, $p = 0.11$) nor conductivity ($F_{2,10} = 2.2$, $p = 0.16$). No differences in DOC values (Table 1) were observed among streams (nested ANOVA, $F_{3,10} = 0.4$, $p = 0.67$) or canopy levels (nested ANOVA, $F_{2,10} = 0.41$, $p = 0.73$). The concentrations of total dissolved phosphorus (TDP) were also low ($< 8 \mu\text{g l}^{-1}$) in all streams (Table 1); the canopy cover did not affect P concentration (nested ANOVA, $F_{2,10} = 0.6$, $p = 0.55$). Total dissolved nitrogen (TDN) was high in van Titter and Goye (Table 1, nested ANOVA, $F_{3,10} = 30.3$, $p < 0.001$), but canopy cover did not affect TDN (nested ANOVA, $F_{2,10} = 0.7$, $p = 0.58$). The TDN:TDP ratio of streams ranges from 28 to 85. The water temperature was low, ranging between 8 and 13°C; there were significant differences in temperature among streams (nested ANOVA, $F_{3,10} = 8.5$, $p = 0.004$, Table 1).

Periphyton Biomass and Elemental Ratios

Periphyton Chl-*a* concentrations were higher (nested ANOVA, $F_{2,10} = 35.4$, $p < 0.001$) under low-light availability (high canopy cover, 2.9 mg Chl-*a* m^{-2}) than intermediate-light conditions (1.6 mg Chl-*a* m^{-2}), and sites with high-light availability (open canopy, 0.5 mg Chl-*a* m^{-2}). No differences were found among streams (nested ANOVA, $F_{3,10} = 1.13$, $p = 0.38$). To elucidate the main factors that control primary producer's bio-

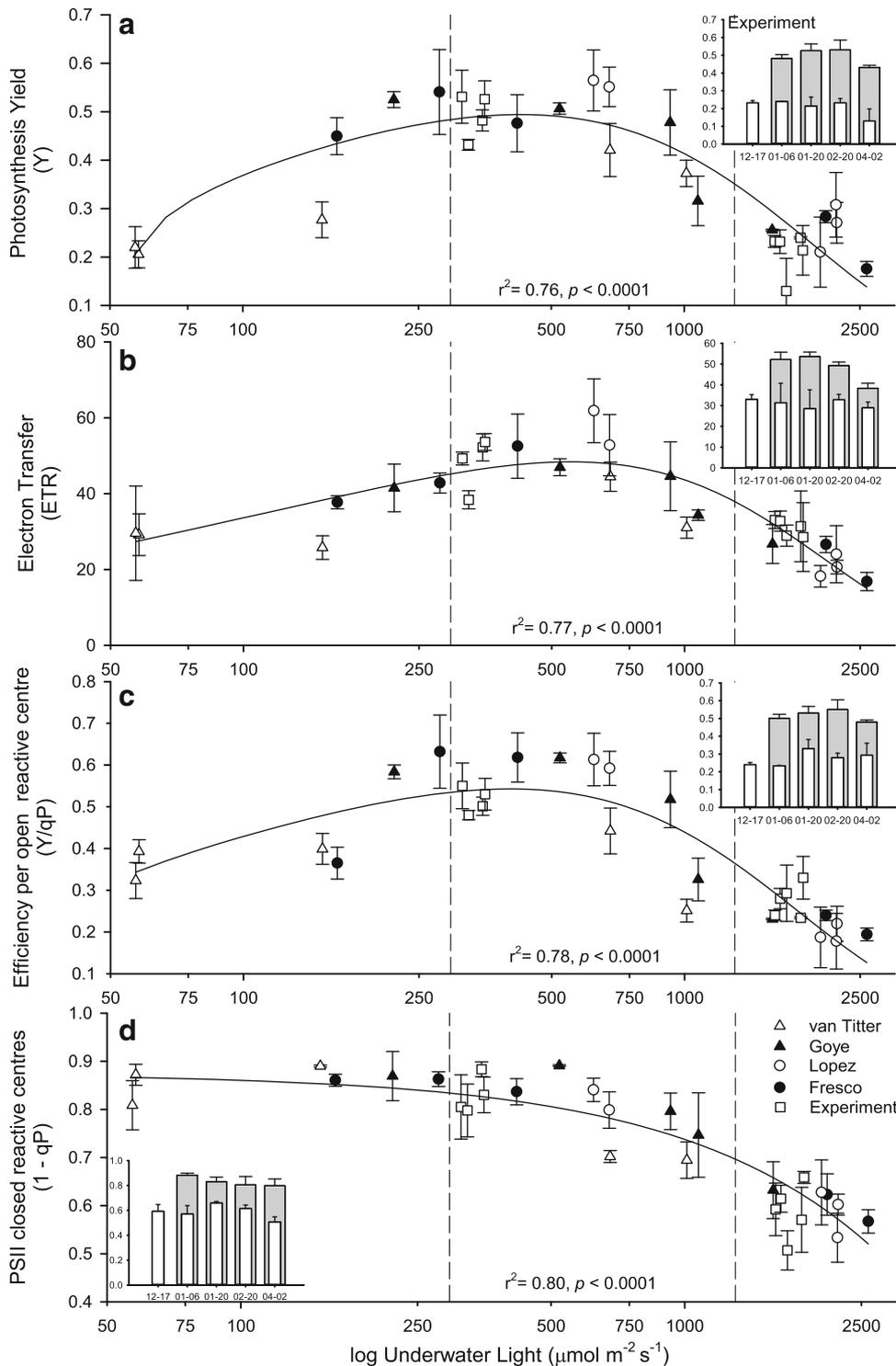


Figure 6. Responses of photosynthetic parameters to underwater light (15 cm depth). **A** Photosynthetic yield, **B** electron transfer (ETR), **C** photosynthetic efficiency per open reactive center (Y/qP), **D** PSII closed reactive centers (1-qP). Data are given as the mean (four replicates - stones-) and standard error. *Nested graph* experimental results by sampled date (month-day): low-light (gray) and full-light (white) treatment. All treatment differences were significant at $p < 0.05$. *Vertical lines* show the 3 groups of light/canopy.

mass (reflected in Chl-*a* values), we developed several environmental models. The models depicted in Table 2 were derived using a mixed model method, with streams included as a random variable. We obtained 127 environmental models. However, only 3 were supported by our data

($\Delta AIC < 2$, Table 2) that explain the variations in Chl-*a* concentration. Among the different factors tested, light availability accounted for the higher likelihood model (Table 2) with an exponential decay curve fit ($r^2 = 0.80$, d.f. = 28, $p < 0.0001$) (Figure 2).

Only sites showed differences in periphyton C concentration (nested ANOVA, $F_{2,10} = 18.9$, $p = 0.0004$), due to differences in canopy cover and therefore in light availability. Sites under high- and low-light availability had periphyton C contents 1.4 and 2.5 times less, respectively, than that in sites with intermediate canopy cover (intermediate light availability). Thus, the periphyton C content in relation to light availability exhibited a bell-shaped curve (Figure 3) with maximum occurring between about 250 and 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The relationship between periphyton C content and primary producers Chl-*a* (C: Chl-*a* ratio) showed that C:Chl-*a* ratio increased as canopy cover decreased (light availability increases). We found differences among sites (nested ANOVA, $F_{2,10} = 10.2$, $p = 0.004$), high-light availability had high C:Chl-*a* ratio than low- and intermediate-light availability (a posteriori Tukey's tests between all pairs were significant at $p < 0.01$). Intermediate- and low-light availability had no differences in C:Chl-*a* ratio (a posteriori Tukey, $p = 0.97$). Also each stream showed a particular relationship (nested ANOVA, $F_{3,10} = 4.4$, $p = 0.03$); this ratio differed among streams (e.g., the ratio ranged from 40 to 184.5 at Lopez and from 21.5 to 40.5 at Goye) (note different lines in Figure 4).

Due to differences in periphyton C contents and similarities in P contents (ANOVA, $F_{3,10} = 1.8$, $p = 0.21$), the periphyton C:P ratio exhibited a similar bell-shaped curve in relation to canopy cover (Figure 5). The maximum C:P ratio, which occurred 250 and 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and was consistent with that observed in the relationship between light and periphyton C (Figure 3).

Photosynthetic Parameters

We observed the highest photosynthesis yield (*Y*) under 250–750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figure 6 A); the maximum electron transfer rate was also obtained under these conditions (Figure 6B). However, primary producers that were chronically exposed to high-light conditions (located under a low canopy with high-light conditions) showed low electron transfer rates. These decreases in electron transfer rates were also obtained under low-light conditions (high canopy cover).

Light quantity directly affects the photosynthetic mechanism. This was evident when we analyzed the photosynthetic efficiency per open reactive center of photosystem II (*Y/qP*, Figure 6C). The highest efficiencies were found in sites with light conditions between 250 and 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The lowest efficiencies were observed in stream

segments that were open or highly covered (high- and low-light availability). Primary producers under both light availability extremes exhibited similar responses (Figure 6). The photosynthetic machinery experiences these differences under high light as photosystem II is severely affected by chronic exposure to excessive light. During the PAM measurements, the actinic light pulse transiently closes all the reaction centers of PSII and provides a maximal fluorescence value in a light-adapted state (growth light). We found that the proportion of closed reactive centers (1-qP) increases when primary producers are adapted to low-light environments (Figure 6D). These organisms dissipate excess light as heat through NPQ (negative lineal regression between NPQ and light availability, slope = -0.09 , $r^2 = 0.67$, $F_{1,28} = 54.2$, $p < 0.001$). This implies that excitation with excess light closes the reactive centers and dissipates heat. In contrast, autotrophs adapted to high-light conditions had low photosynthetic responses to the actinic pulse in all photosynthetic parameters (ETR, *Y/qP*, and 1-qP) (Figure 6).

Experimental Results

During the 106 days of the experiment, temperatures varied between 12.3 and 6.9°C, with an average temperature of $8.9 \pm 1.8^\circ\text{C}$. Nutrient concentration remained almost invariable (Table 1).

Under low-light treatment, the light conditions were similar (mean = 335 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) to those found in the field at sites with intermediate light availability. In contrast, full-light treatment provided high-light (mean = 1729 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) across the experiment that was similar to streams with open canopies. Between low- and high-light treatments, significant differences in Chl-*a* concentrations (2.68 and 1.36 mg m^{-2} , respectively; two-way ANOVA, $F_{1,24} = 133.2$, $p < 0.001$, Figure 2), C contents (two-way ANOVA, $F_{1,24} = 31.5$, $p < 0.001$, Figure 3), and C:P ratios (two-way ANOVA, $F_{1,24} = 26.3$, $p < 0.001$, Figure 5) were observed. Under low-light treatment, a higher electron transfer rate was observed (two-way ANOVA, $F_{1,24} = 7.4$, $p = 0.012$, ETR = 48.38, Figure 6B). Accordingly, a higher photosynthetic rate was also observed under low-light treatment (two-way ANOVA, $F_{1,24} = 10.2$, $p = 0.004$, *Y* = 0.5, Figure 6A). The periphyton under the shaded treatment responded to SAL with a higher proportion of closed reactive centers (two-way ANOVA, $F_{1,24} = 6.8$, $p = 0.015$, 1-qP = 0.80, Figure 6D) and greater dissipation through heat (two-way ANOVA,

$F_{1,24} = 9.5$, $p = 0.005$, $NPQ = 0.26$) than periphyton under high-light treatment ($1-qP = 0.60$, $NPQ = 0.15$). Furthermore, the obtained experimental data fit well with the field data. Therefore, these data were included in the figures relating light availability with periphyton parameters (see the empty squares in Figures 2, 3, 4, 5, 6 and the nested graphs with the differences between treatments during sampling dates).

DISCUSSION

Here, we showed how *Nothofagus* riparian canopy affects the light environments of mountain streams in northern Patagonia. Changes in these environments affect primary producers biomass, photosynthetic parameters, and periphyton stoichiometry (C:P ratios). Our data suggest that the complexity of the forest structure directly affects periphyton stoichiometry. Light impacts photosynthesis, which in turn affects carbon fixation and elemental ratios. Light availability over streams was observed to be directly related to the vertical and horizontal complexity in forest structures (Stovall and others 2009). The spatial and temporal variations in irradiance occur when direct sun penetrates small openings in the canopy (sunflecks) (De Nicola and others 1992). When determining photosynthetic parameters with the PAM, the actinic pulse causes a change in light intensity that emulates a sunfleck penetrating through the canopy. We observed that periphyton communities growing under high-light conditions are light-stressed. Low photosynthetic responses were observed for all photosynthetic parameters (ETR, Y/qP , $1-qP$) during the SAL pulse (Figure 6). Different studies have detected decreases in the response to spatial and temporal variations in irradiance in primary producers under light stress (Derks and others 2015) and a delay in the electron transport between PSII and PSI (Khatoon and others 2009). This process would interfere with the NPQ mechanism (Yamamoto and others 2014), increasing the susceptibility of the photosynthetic machinery to photodamage (Murata and others 2007). If this over-exposure is prolonged, the photochemistry of PSII will lose functionality and efficiency (Chan and others 2013) due to chronic photoinhibition (Derks and others 2015). However, periphyton exposed to low-light conditions also exhibited low photosynthetic parameters (Figure 6) during the SAL pulse. Because these periphytic autotrophs are growing under low-light conditions, they may have high susceptibility to sudden changes in irradiance (that is, sunflecks or SAL pulses). This extra energy

cannot be used because the PSII reaction centers are closed to prevent photodamage, which increases heat dissipation. Previous studies have suggested that primary production increase monotonically with light availability with a plateau between 100 and 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Hill and others 1995; Hill and Fanta 2008; Hill and others 2009). Hill and others (2009) employed a range of irradiances that are common in shaded streams, and found that the instantaneous irradiance that saturated growth was 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Our results showed a bell-shaped trend with light-saturation point about 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and a decline point about 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The difference in light saturation (100–400, 250–750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) can be attributed to the light history of field primary producers that are exposed to variable and higher irradiances throughout the day than indoor experiments (Hill and Fanta 2008; Hill and others 2009) with controlled and constant light conditions. The change in the trend from an increase to a maximum to a bell-shaped response has important consequences when predicting the response of periphytic primary producers to changes in ambient light conditions.

The ratio of periphyton C to Chl-*a* may indicate the importance of primary producers relative to heterotrophic and detrital content (Geider 1987; Goedkoop and Johnson 1996). C:Chl-*a* ratios below 100 are values that indicate a high algal cellular content, whereas values up to 200 indicate a still significant contribution of algal cellular C to periphyton C (Geider 1987; Frost and others 2005). In our dataset, almost 69% of samples were under 100 and all samples (mean of 4 replicates) C:Chl-*a* ratios were below 200. Thus, our C:Chl-*a* measurements suggest that primary producers are functionally important in the periphyton matrix and our analysis of the photosynthetic parameters would reflect the dynamics of periphyton.

The observed changes in the photosynthetic parameters of primary producers have consequences in their elemental stoichiometry. Under low-light availability (high canopy cover) and because of light limitations, periphytic primary producers increase photon capture by maintaining a high proportion of open reactive centers (Figure 6D). Hill and Dimick (2002) studied the effect of seasonal changes in light availability on periphyton and found that light utilization efficiency was maximal under low-light conditions. This light limitation results in low C fixation, that affects the elemental composition of periphyton, resulting in a reduction in carbon content (low C:P and low C:Chl-*a* ratios) (Figure

s 3, 4, 5). In contrast under high-light conditions (low canopy cover) primary producers exhibited low Chl-*a* content (Figure 2) and high C:Chl-*a* ratio (Figure 3). These findings suggest that the size of the light-harvesting antennae was reduced (Croce and van Amerongen 2014) with a subsequent decrease in light-harvesting efficiency (Horton and others 2008). If this situation is prolonged, autotrophs can exude significant quantities of organic carbon (primarily as exopolymeric substances) (Rader and Belish 1997). A slow decomposition of this nutrient-poor organic matter would cause a reduction in the prevalence of algal cell (Frost and others 2002). Concurrently, heterotrophic bacteria and fungi associated with periphyton may become a significant carbon pool, decreasing the relative importance of algal biomass (Hillebrand and Kahlert, 2002). However, in our results most of the obtained C:Chl-*a* ratios were below 100 and all below 200 indicating a high importance of algal biomass in the periphyton matrix. Primary producers that remain under high-light–low-nutrient conditions have severely compromised their photosynthetic mechanism (low efficiency and low electron transport rate, Figure 6). Thus, a decrease in the C photosynthetic fixation results in a low C:P ratio (Figures 3, 5). In addition, the UVR component of sunlight also negatively affects the quantum yield and C fixation reducing the C:P ratio of periphyton (Xenopoulos and others 2002; Martyniuk and others 2014) and in experimental streams Frost and others (2007) found that UVB removal increased C:P ratio. In our study, canopy and the neutral screen of the field experiment decreased the solar spectra as a whole hence no differential absorption of different wavelengths can be assumed. Therefore, intermediate-light conditions of the whole solar radiation (PAR and UVR) resulted in optimal conditions for photosynthesis, as high ETR and high efficiency per open reactive center (Y/qP) were observed (Figure 6). These light conditions were achieved due to a combination of shade and sunflecks. Primary producers located under intermediate-light conditions benefitted from this fluctuating light.

Climate change predictions (Barros and others 2013; Magrin and others 2014) showed an increment in the probability of occurrence of extreme weather events (e.g., droughts and floods) that will modify scour, hydrology, and temperature regimes. Increases in air temperature will affect the quantity and timing of terrestrial detrital inputs relative to in situ aquatic production (Mulholland and others 2009). Also changes in scour and hydrology may increase runoff (Milly and others 2005) and this

will produce modifications in allochthonous organic matter inputs (Kominoski and Rosemond 2012). Increased temperatures may promote microbial activity and nutrient sequestration (increasing detrital nutrient content) associated with organic matter and result in greater microbial than metazoan processing (Boyero and others 2011). Finally, reductions in the quantity and quality of terrestrial detritus and changes in autotrophs will alter production of microbial and metazoans in aquatic food webs (Kominoski and Rosemond 2012).

Forests also will respond to climate change by altering their range and density, resulting in shifts in vegetation structure (Suarez and Kitzberger 2010; Iglesias and others 2012). Based on the expected changes in precipitation and temperature in the North Patagonian wet forest (Barros and others 2013), we predict how these modifications may interact with periphyton parameters (Chl-*a*, periphyton C content, and photosynthetic parameters, Figure 6) considering that autotrophs are the main source of organic matter for periphyton. In the present situation, intermediate canopy cover allows for high Chl-*a* contents, high photosynthetic parameters, and high autochthonous C contents (through photosynthetic C fixation) across a wide sector (S2 A). However, in future scenarios (S2 B-C) of climate change derived from the IPCC and other studies climate change (Barros and others 2013) and of forest dynamics (Suarez and Kitzberger 2010; Iglesias and others 2012), the intermediate sector allowing for optimum conditions for periphyton development will be progressively reduced. In the near future (2015–2039), the light conditions for primary producers will change little; this is because the models predict small changes in forest structure at the treeline (Barros and others 2013). However, in the far future (2075–2099), the intermediate canopy cover is expected to retract (Daniels and Veblen 2004; Svenning and Sandel 2013; Zhu and others, 2014) because of an increase in extreme precipitation events and natural deforestation (Young and Leon 2007) reducing the optimum conditions for periphyton. These changes in forest structure may co-occur with other of the abovementioned hydrological and physical changes leading to complex and currently unexplored dynamics.

Alpine forest dynamics all around the world, including those in the Patagonian Andes, are expected to change due to climate conditions. Increased heat, floods, and drought will lead to a loss in forest cover (Palmer and others 2009; Williamson and others, 2014). However, in some pla-

ces, forests are shifting upwards (Donato 2013) and becoming more dense (Dial and others 2007). This would affect the development of optimum sectors for periphyton growth. Thus, it is important to consider that forests not only act as donors for stream ecosystems, as in the classic continuum stream models, but also modulate autochthonous carbon production through direct effects on light availability. Finally, it is necessary to develop climate change projections that consider the dynamics of riparian forest cover that will, in turn, affect stream ecosystem stoichiometry.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank to Paul Frost and one anonymous reviewer whose comments and suggestions greatly improved this manuscript. We thank the National Park Administration of Argentina for authorization to carry out this study. This work was supported by Fondo Nacional de Ciencia y Técnica PICT 2012-1168 and PICT 2014-1002.

REFERENCES

- Allen CD et al. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *For Ecol Manag* 259:660–84.
- Álvarez C, Veblen TT, Christie DA, González-Reyes Á. 2015. Relationships between climate variability and radial growth of *Nothofagus pumilio* near altitudinal treeline in the Andes of northern Patagonia, Chile. *For Ecol Manag* 342:112–21.
- Anderson M. 1964. Studies of the woodland light climate: I. The photographic computation of light conditions. *J Ecol* 52:27–41.
- Barros VR, et al. 2013. Cambio climático en Argentina; tendencias y proyecciones. Barros VR, Vera C editors. Tercera Comunicación de la República Argentina a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático. Buenos Aires, Argentina: Centro de Investigaciones del Mar y la Atmósfera, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación, p 341.
- Boyero L et al. 2011. A global experiment suggests climate warming will not accelerate litter decomposition in streams but might reduce carbon sequestration. *Ecol Lett* 14:289–94.
- Chan T, et al. 2013. Quality control of photosystem II: lipid peroxidation accelerates photoinhibition under excessive illumination. *PLoS One* 7.
- Croce R, van Amerongen H. 2014. Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nat Chem Biol* 10:492–501.
- Cross WF, Benstead JP, Frost PC, Thomas SA. 2005. Ecological stoichiometry in freshwater benthic systems: recent progress and perspectives. *Freshw Biol* 50:1895–912.
- Daniels LD, Veblen T. 2004. Spatiotemporal influences of climate on altitudinal treeline in northern Patagonia. *Ecology* 85:1284–96.
- De Nicola M, Hoagland KD, Roemer S. 1992. Influences of canopy cover on spectral irradiance and periphyton assemblages in a Prairie stream. *J N Am Benthol Soc* 114:391–404.
- Derks A, Schaven K, Bruce D. 2015. Diverse mechanisms for photoprotection in photosynthesis. Dynamic regulation of photosystem II excitation in response to rapid environmental change. *Biochim Biophys Acta* 1847:468–85.
- Dial RJ, et al. 2007. Changes in the alpine forest-tundra ecotone commensurate with recent warming in southcentral Alaska: evidence from orthophotos and field plots. *J Geophys Res* 112.
- Díaz Villanueva V, Bastidas Navarro M, Albariño R. 2016. Seasonal patterns of organic matter stoichiometry along a mountain catchment. *Hydrobiologia*.
- Dirnböck T, Essl F, Rabitsch W. 2011. Disproportional risk for habitat loss of high-altitude endemic species under climate change. *Glob Change Biol* 17:990–6.
- Donato DC. 2013. Limits to upward movement of subalpine forests in a warming climate. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:7971–2.
- Eaton AD, et al. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington: American Public Health Association, American Water Works Association.
- Frost P, Stelzer RS, Lamberti GA, Elser JJ. 2002. Ecological stoichiometry of trophic interactions in the benthos: understanding the role of C:N: P ratios in lentic and lotic habitats. *J N Am Benthol Soc* 21:515–28.
- Frost PC et al. 2007. Effects of dissolved organic matter and ultraviolet radiation on the accrual, stoichiometry and algal taxonomy of stream periphyton. *Freshw Biol* 52:319–30.
- Frost PC, Hillebrand H, Kahlert M. 2005. Low algal carbon content and its effect on the C:P stoichiometry of periphyton. *Freshw Biol* 50:1800–7.
- Geider RJ. 1987. Light and temperature dependence of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae and cyanobacteria: implications for physiology and growth of phytoplankton. *New Phytol* 106:1–34.
- Gjerløv C, Richardson JS. 2010. Experimental increases and reductions of light to streams: effects on periphyton and macroinvertebrate assemblages in a coniferous forest landscape. *Hydrobiologia* 652:195–206.
- Goedkoop W, Johnson RK. 1996. Pelagic-benthic coupling: Profundal benthic community response to spring diatom deposition in mesotrophic Lake Erken. *Limnol Oceanogr* 41:636–47.
- Graham AA, McCaughan DJ, McKee FS. 1987. Measurement of surface area of stones. *Hydrobiologia* 157:85–7.
- Grigorév AA, Moiseev PA, Nagimov ZY. 2013. Dynamics of the timberline in high mountain areas of the nether-polar Urals under the influence of current climate change. *Russ J Ecol* 44:312–23.
- Harsch MA, Hulme PE, McGlone MS, Duncan RP. 2009. Are treelines advancing? A global meta-analysis of treeline response to climate warming. *Ecol Lett* 12:1040–9.
- Hill WR, Dimick SM. 2002. Effects of riparian leaf dynamics on periphyton photosynthesis and light utilisation efficiency. *Freshw Biol* 47:1245–56.
- Hill WR, Fanta SE. 2008. Phosphorus and light colimit periphyton growth at subsaturating irradiances. *Freshw Biol* 23:215–25.
- Hill WR, Fanta SE, Roberts BJ. 2009. Quantifying phosphorus and light effects in stream algae. *Limnol Oceanogr* 54:368–80.
- Hill WR, Ryon MG, Schilling EM. 1995. Light limitation in a stream ecosystem: responses by primary producers and consumers. *Ecology* 76:1297–309.

- Hillebrand H. 2005. Light regime and consumer control of autotrophic biomass. *J Ecol* 93:758–69.
- Hillebrand H, Kahlert M. 2002. Effect of grazing and water column nutrient supply on biomass and nutrient content of sediment microalgae. *Aquat Bot* 72:143–59.
- Horton P et al. 2008. Photosynthetic acclimation: does the dynamic structure and macro-organisation of photosystem II in higher plant grana membranes regulate light harvesting states? *FEBS J* 275:1069–79.
- Iglesias V et al. 2012. Climate and local controls of long-term vegetation dynamics in northern Patagonia (Lat 41°S). *Quat Res* 78:502–12.
- Khatoun M et al. 2009. Quality control of photosystem II: thylakoid unstacking is necessary to avoid further damage to the D1 protein and to facilitate D1 degradation under light stress in spinach thylakoids. *J Biol Chem* 284:25343–52.
- Kominoski JS, Rosemond AD. 2012. Conservation of the bottom up: forecasting effects of global change on dynamics of organic matter and management needs for river networks. *Freshw Sci* 31:51–68.
- Körner C. 2007. Climatic treelines: conventions, global patterns, causes. *Erdkunde* 61:316–24.
- Macias-Fauria M, Johnson EA. 2013. Warming-induced upslope advance of subalpine forest is severely limited by geomorphic processes. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:8117–22.
- Mackey KRM, Paytan A, Grossman AR, Bailey S. 2008. A photosynthetic strategy for coping in a high-light, low-nutrient environment. *Limnol Oceanogr* 53:900–13.
- Magnin A, Puntieri J, Villalba R. 2014. Interannual variations in primary and secondary growth of *Nothofagus pumilio* and their relationships with climate. *Trees* 28:1463–71.
- Magrin GO, et al. 2014. Central and South America. In: Barros VR, Field CB, Dokken DJ, Mastrandrea MD, Mach KJ, Bilir TE, Chatterjee M, Ebi KL, Estrada YO, Genova RC, Girma B, Kissel ES, Levy AN, MacCracken S, Mastrandrea PR, White LL, Eds. *Climate Change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part B: regional aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, pp 1499–566.
- Marcott SA, Shakun JD, Clark PU, Mix AC. 2013. A reconstruction of regional and global temperature for the past 11,300 years. *Science* 339:1198–201.
- Markert B et al. 1997. A contribution to the study of the heavy-metal and nutritional element status of some lakes in the southern Andes of Patagonia (Argentina). *Sci Total Environ* 206:1–15.
- Martínez Pastur GJ et al. 2011. Canopy structure analysis for estimating forest regeneration dynamics and growth in *Nothofagus pumilio* forests. *Ann Forest Sci* 68:587–94.
- Martyniuk N, Modenutti B, Balseiro E. 2014. Can increased glacial melting resulting from global change provide attached algae with transient protection against high irradiance? *Freshw Biol* 59:2290–302.
- Massaccesi G, Roig FA, Martínez Pastur GJ, Barrera MD. 2007. Growth patterns of *Nothofagus pumilio* trees along altitudinal gradients in Tierra del Fuego, Argentina. *Trees* 22:245–55.
- Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot* 51(345):659–68.
- Milly PCD, Dunne KA, Vecchia AV. 2005. Global pattern of trends in streamflow and water availability in a changing climate. *Nature* 438:347–50.
- Mladenov N et al. 2011. Dust inputs and bacteria influence dissolved organic matter in clear alpine lakes. *Nat Commun* 2:405.
- Modenutti B et al. 2010. Structure and dynamic of food webs in Andean North Patagonian freshwater systems: organic matter, light and nutrient relationships. *Ecol Aust* 20:95–114.
- Montgomery RA, Chazdon RL. 2001. Forest structure, canopy architecture and light transmittance in tropical wet forests. *Ecol Eng* 82:2707–18.
- Mulholland PJ, Roberts BJ, Hill WR, Smith JG. 2009. Stream ecosystem responses to the 2007 spring freeze in the south-eastern United States: unexpected effects of climate change. *Glob Change Biol* 15:1767–76.
- Müller P, Li XP, Niyogi KK. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol* 125:1558–66.
- Murata N, Takahashi S, Nishiyama Y, Allakhverdiev SI. 2007. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim Biophys Acta* 1767:414–21.
- Nusch EA. 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Archiv für Hydrobiologie-Beiheft Ergebnisse der Limnologie* 14:14–36.
- O'Grady AP, Tissue DT, Beadle CL. 2011. Canopy processes in a changing climate. *Tree Physiol* 31:887–92.
- Palmer MA et al. 2009. Climate change and river ecosystems: protection and adaptation options. *Environ Manag* 44:1053–68.
- Paulsen J, Körner C. 2014. A climate-based model to predict potential treeline position around the globe. *Alpine Botany*.
- Pedrozo F, Chillrud S, Temporetti P, Diaz M. 1993. Chemical composition and nutrient limitation in rivers and lakes of northern Patagonian Andes (39.5° -42°S; 71°W) (Rep. Argentina). *Verh Int Verein Limnol* 25:207–14.
- Rader R, Belish T. 1997. Effects of ambient and enhanced UV-B radiation on periphyton in a mountain stream. *J Freshw Ecol* 12:615–28.
- Randin CF et al. 2013. Do the elevational limits of deciduous tree species match their thermal latitudinal limits? *Glob Ecol Biogeogr* 22:913–23.
- Rehm EM, Feeley KJ. 2013. Forest patches and the upward migration of timberline in the southern Peruvian Andes. *For Ecol Manag* 305:204–11.
- Roháček K, Soukupová J, Bartak M. 2008. Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress. *Plant Cell Compartments—Selected Topics* 41–104.
- Sterner RW, Elser JJ. 2002. *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton: Princeton University Press, xxi
- Sterner RW et al. 1997. The light: nutrient ration in lakes: the balance of energy and materials affects ecosystem structure and process. *Am Nat* 150:663–84.
- Stovall JP, Keeton WS, Kraft CE. 2009. Late-successional riparian forest structure results in heterogeneous periphyton distributions in low-order streams. *Can J For Res* 39:2343–54.
- Suarez ML, Kitzberger T. 2010. Differential effects of climate variability on forest dynamics along a precipitation gradient in northern Patagonia. *J Ecol* 98:1023–34.

- Svenning JC, Sandel B. 2013. Disequilibrium vegetation dynamics under future climate change. *Am J Bot* 100:1266–86.
- Sweeney BW. 1992. Streamside forests and the physical, chemical, and trophic characteristics of Piedmont streams in Eastern North America. *Water Sci Technol* 26:2653–73.
- Takahashi S, Murata N. 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci* 13:178–82.
- Team RDC. 2015. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Torres AD et al. 2015. Seed production and recruitment in primary and harvested *Nothofagus pumilio* forests: influence of regional climate and years after cuttings. *For Syst* 24:016.
- Vannote RL et al. 1980. The river continuum concept. *Can J Fish Aquat Sci* 37:130–7.
- Veblen TT, Hill RS, Read J. 1996. The ecology and biogeography of *Nothofagus* forests. New Haven: Yale University Press.
- Villalba R et al. 1997. Recent trends in tree-ring records from high elevation sites in the Andes of northern Patagonia. *Clim Change* 36:425–54.
- Webster JR, Patten BC. 1979. Effects of watershed perturbation on stream potassium and calcium dynamics. *Ecol Monogr* 49:51–72.
- Wetzel RG. 2001. *Limnology : lake and river ecosystems*. San Diego: Academic Press.
- Williams MI, Dumroese RK. 2013. Preparing for climate change: forestry and assisted migration. *J For* 111:287–97.
- Williamson GJ et al. 2014. Projecting canopy cover change in Tasmanian eucalypt forests using dynamically downscaled regional climate models. *Reg Environ Change* 14:1373–86.
- Xenopoulos MA, Frost PC, Elser JJ. 2002. Joint effects of UV radiation and phosphorus supply on algal growth rate and elemental composition. *Ecology* 83:423–35.
- Yamamoto Y et al. 2014. Quality control of PSII: behavior of PSII in the highly crowded grana thylakoids under excessive light. *Plant Cell Physiol* 55:1206–15.
- Young KR, Leon B. 2007. Tree-line changes along the Andes: implications of spatial patterns and dynamics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362:263–72.
- Zhu K et al. 2014. Dual impacts of climate change: forest migration and turnover through life history. *Glob Chang Biol* 20:251–64.