

Estructura y dinámica del bacterioplancton en cuatro lagunas pampeanas de la cuenca del río Salado (Buenos Aires, Argentina)

GUILLERMINA NUOZZI^{1,2,✉}; CAMILA SEOANE ROCHA³; MARA SAGUA^{1,2}; M. EUGENIA LLAMES⁴; PAULA HUBER⁵; SEBASTIÁN METZ⁶; LEONARDO LAGOMARSINO⁴ & M. ROMINA SCHIAFFINO^{1,2}

¹ Departamento de Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (UNNOBA). Junín, Argentina. ² Centro de Investigaciones y Transferencia del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (CITNOBA)-UNNOBA-UNSAaA-CONICET. ³ Cátedra de Citología, Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Buenos Aires, Argentina. ⁴ Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH), Universidad Nacional de San Martín (UNSAM)-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Chascomús, Buenos Aires, Argentina. ⁵ Instituto Nacional de Limnología (INALI, CONICET-UNL). Santa Fe, Argentina. ⁶ Université de Bretagne Occidentale, CNRS, IRD, Ifremer, LEMAR. Plouzané, France.

RESUMEN. El bacterioplancton es un componente esencial en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos y tiene un profundo impacto en la calidad del agua de los sistemas. Por lo tanto, es importante ampliar el conocimiento sobre su dinámica y diversidad genética. Los objetivos del presente estudio fueron evaluar la estructura y la dinámica del bacterioplancton en cuatro lagunas pertenecientes a la Región Pampeana, ubicadas en la cuenca superior (Gómez, Carpincho) e inferior (Chascomús, El Triunfo) del río Salado, y también analizar la influencia de los factores ambientales y espaciales sobre estas comunidades. Para ello se realizaron muestreos estacionales durante un año (enero 2015-enero 2016) en los que se analizaron parámetros limnológicos y la estructura del bacterioplancton mediante secuenciación masiva del gen 16S rRNA con la plataforma Illumina MiSeq. Los índices de diversidad resultaron significativamente mayores en las lagunas de la cuenca superior, en comparación con las lagunas de la cuenca inferior. La riqueza fue significativamente más baja en la laguna de régimen claro y desconectada del río (El Triunfo), en comparación con el resto de las lagunas de régimen turbio y conectadas al río (Gómez, Carpincho y Chascomús). La composición resultó diferente entre todas las lagunas, excepto entre aquellas interconectadas y cercanas (Gómez y Carpincho). Variables ambientales como el fósforo total, la conductividad eléctrica y Secchi influyeron en la composición del bacterioplancton de las lagunas estudiadas. Asimismo, la similitud en la composición del bacterioplancton se incrementó significativamente con el aumento de la similitud ambiental de las lagunas, y disminuyó con la distancia espacial entre ellas. Los resultados evidencian una variación sustancial en la estructura comunitaria entre los sistemas estudiados, explicada tanto por factores ambientales como espaciales. La estructura bacteriana no solo varió entre cuencas, sino también entre sistemas con diferentes regímenes o conexiones al río.

[Palabras clave: bacterias planctónicas, dinámica temporal, régimen turbio-claro, ilumina]

ABSTRACT. Structure and dynamics of bacterioplankton from four Pampean shallow lakes of the Salado River basin (Buenos Aires, Argentina). Bacterioplankton is an essential component for the functioning of aquatic ecosystems and has a profound impact on the water quality of the aquatic environments. It is therefore important to increase knowledge about its dynamics and genetic diversity. The main objectives of this work were to evaluate the structure and dynamics of bacterioplankton from four Pampean shallow lakes located in the upper (Gómez and Carpincho) and lower (Chascomús and El Triunfo) basins of the Salado River, as well as to determine the influence of environmental factors on these communities. To achieve this, seasonal samplings were performed during one year (January 2015-January 2016), in which main limnological variables were determined and the structure of bacterioplankton was analyzed by means of Illumina next-generation amplicon sequencing of the 16S rRNA gene. Bacterioplankton diversity indices were significantly higher in shallow lakes from the upper basin relative to those of the lower basin. Bacterioplankton richness was significantly lower in the clear-regime and disconnected shallow lake (El Triunfo) than in the turbid-regime and connected shallow lakes (Gómez, Carpincho and Chascomús). Bacterioplankton composition differed between all shallow lakes, except between the nearby and interconnected shallow lakes (Gómez and Carpincho). Environmental variables, such as total phosphorus, conductivity and Secchi depth, influenced the bacterioplankton composition in the studied lakes. Similarity in the bacterioplankton composition increased significantly with higher environmental similarity between lakes and decreased with spatial distance between them. Our results showed the bacterioplankton structure of the studied lakes was ruled by environmental and spatial factors. The bacterial structure varied between basins, and also between systems with different regimes and/or connections to the river.

[Keywords: planktonic bacteria, temporal dynamic, turbid-clear regime, illumina]

INTRODUCCIÓN

Existe una relación compleja y estrecha entre los procesos ecológicos críticos de los ecosistemas y las comunidades microbianas que en ellos se desarrollan. Las bacterias —incluido el bacterioplancton— representan uno de los grupos más abundantes y diversos de organismos del planeta, y cumplen un rol esencial en estos procesos fundamentales para el sostenimiento de la vida (Whitman et al. 1998; Prosser et al. 2007). La capacidad de utilizar sustratos orgánicos como fuente de carbono y energía constituye la base del funcionamiento de la comunidad microbiana, y de esto dependen el resto de los procesos biogeoquímicos y funciones ecológicas del ecosistema (Fenchel 2008). De esta manera, el bacterioplancton es responsable en gran medida del control y equilibrio de los ecosistemas acuáticos.

La Región Pampeana es una de las ecorregiones de humedales más extensa de la porción templada de América del Sur (Quirós 2005). Debido a su heterogeneidad geológica, su geomorfología y a la alternancia entre periodos de sequía e inundación, presenta un sistema importante de humedales y lagunas en las zonas más deprimidas de la planicie (e.g., Diovisalvi et al. 2015). Muchas de estas lagunas se encuentran interconectadas por redes fluviales, y algunas presentan en forma permanente un estado turbio o claro, mientras que otras cambian recurrentemente entre diferentes regímenes (Quirós et al. 2002a; Allende et al. 2009; Sánchez et al. 2014). Esta alternancia entre estados turbios y claros se basa en la interacción entre la vegetación acuática (macrófitas) y la turbidez (Scheffer et al. 1993; Quirós et al., 2002b). Los cuerpos de agua con una alta cobertura de macrófitas tienden a tener una mayor transparencia que aquellos con el mismo estado de nutrientes en los que la vegetación es escasa o nula (Scheffer et al. 1993; Quirós et al. 2022b). Por su parte, las lagunas de la Región Pampeana se caracterizan por presentar un grado alto de trofismo natural, y su dinámica está influida en gran medida por las condiciones climáticas e hidrológicas (Gabellone et al. 2003; Diovisalvi et al. 2015). En los últimos años, el estado trófico de estas lagunas fue variando entre eutrófico e hipereutrófico, con frecuentes floraciones de algas y cianobacterias (e.g., Quirós et al. 2002b; Grosman 2008; O'Farrell et al. 2019, 2021), como consecuencia del desarrollo económico, el crecimiento poblacional y las actividades agrícola-

ganaderas que se realizan a sus alrededores (e.g., Bazzuri et al. 2018). Por lo general, estos cambios perturban el funcionamiento normal de los ecosistemas acuáticos y afectan a los servicios ecosistémicos tales como el reciclado de nutrientes, el mantenimiento del régimen de descarga de ríos, la recarga de napas subterráneas, la provisión de hábitat para la biodiversidad y las actividades de recreación (Quirós 2000; MEA 2005).

Dentro de la Región Pampeana se encuentra la cuenca del río Salado, una de las más extensas e importantes de la República Argentina (Bettolli et al. 2009). Esta cuenca presenta un gran número de lagunas asociadas al río, con diferente grado de conectividad; esto hace que todo el sistema actúe de forma interconectada dependiendo de los ciclos hídricos (Gabellone et al. 2001, 2003, 2014). Diversas actividades humanas como la pesca, la agricultura, el pastoreo, el transporte, la recreación y el turismo requieren de los recursos naturales que las lagunas proveen y, por lo tanto, del mantenimiento de sus condiciones ecológicas, su protección y manejo (Malvárez and Bó 2004). El proceso de agriculturización ha modificado el paisaje dejando a las lagunas de la cuenca superior rodeadas fundamentalmente por tierras destinadas a cultivo de trigo-soja y maíz-girasol, mientras que las de la cuenca inferior, a la cría de ganado vacuno (Gabellone et al. 2003, 2005; Sánchez et al. 2021). Asimismo, en los últimos años, esta cuenca fue modificada profundamente en virtud de las obras hidráulicas realizadas en el marco de Plan Maestro del río Salado, con canalizaciones, compuertas y vertederos para regular el nivel de agua (Bazzuri et al. 2018), lo que afectó las características físicas, químicas y biológicas de la cuenca.

Varios autores realizaron trabajos relacionados con la estructura del bacterioplancton en sistemas acuáticos someros eutróficos, incluyendo estudios de dinámica temporal (e.g., Wei et al. 2008; De Figueiredo et al. 2010; Zhao et al. 2020) y composición del bacterioplancton en lagunas impactadas por actividades agropecuarias (e.g., Van der Gucht et al. 2001; Kraemer et al. 2020). En particular, pocos trabajos en las lagunas asociadas al río Salado estudiaron la dinámica y la estructura del bacterioplancton utilizando herramientas moleculares. La mayor parte se realizaron en lagunas de la cuenca inferior del río Salado (Llames 2011; Llames et al. 2013, 2017; Sánchez et al. 2015; Huber et al. 2017; Seoane Rocha 2018; Castro Berman

et al. 2020) y algunos pocos en lagunas de la cuenca superior de dicho río (Seoane Rocha 2018; Quiroga 2020; Schiaffino et al. 2020). Sin embargo, este trabajo es el primero en abordar un análisis comparativo de las comunidades del bacterioplancton y su diversidad genética entre lagunas pertenecientes a la cuenca superior e inferior del río Salado, las cuales presentan impactos antrópicos diferenciales. La agricultura, la ganadería y la urbanización pueden modificar las condiciones ambientales de las lagunas (e.g., concentración de nutrientes, sólidos en suspensión, niveles de oxígeno disuelto), las cuales, a su vez, pueden ejercer un efecto directo sobre la estructura del bacterioplancton (Zhou et al. 2020).

Resulta crucial comprender cuáles son aquellos factores que regulan la diversidad del bacterioplancton, ya que son —en gran medida— los mismos que regulan el funcionamiento del ecosistema y muchos de los servicios que brindan dichas lagunas (e.g., Morin and McGrady-Steed 2004). Esta información es clave y necesaria para gestionar y conservar los servicios ecosistémicos que brindan tales microorganismos (i.e., de provisión [alimentos, suplementos dietarios, etc.], regulación [descomposición de contaminantes, etc.] y soporte [fotosíntesis, ciclo de nutrientes, descomposición de materia orgánica, etc.]) (Ducklow 2008; Barbosa da Costa et al. 2021; Llamas et al. enviado). Los objetivos del presente estudio fueron 1) evaluar la estructura (i.e., riqueza, diversidad y composición) y la dinámica temporal del bacterioplancton en cuatro lagunas pertenecientes a la Región Pampeana, ubicadas en la cuenca superior (Gómez y Carpincho) e inferior (Chascomús y El Triunfo) del río Salado, y 2) analizar la relevancia de los factores ambientales y espaciales en la determinación de la estructura comunitaria en estos sistemas, dentro del contexto de las transformaciones ambientales provocadas por las actividades humanas. Teniendo presente que los ecosistemas de corredores fluviales —como el río Salado y sus lagunas asociadas— se consideran sistemas separados desde el punto de vista espacial, pero hidrológicamente conectados (Fisher et al. 1998), las preguntas subyacentes a este análisis son a) ¿existen diferencias sustanciales en la estructura comunitaria de estos sistemas?, y b) ¿cuáles son los factores más relevantes (ambientales o espaciales) en la determinación de la estructura del bacterioplancton observada? Como hipótesis general se plantea que debido

a las diferencias ambientales y espaciales, la estructura comunitaria del bacterioplancton de las lagunas de la cuenca superior del río Salado difiere respecto a las comunidades que se desarrollan en lagunas de la cuenca inferior.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las cuatro lagunas estudiadas se encuentran en la Llanura Pampeana (33°-39° S - 57°-66° O), que representa la región agropecuaria más productiva de la Argentina (Bettolli et al. 2009; Cabrini et al. 2019). El clima en esta región es templado húmedo, con veranos cálidos e inviernos moderados (Burgos and Vidal 1951). Las precipitaciones medias son de 935 mm/año y disminuyen de este a oeste, oscilando entre 1200 mm/año en el noreste y menos de 500 mm/año en el sur-oeste (Sierra et al. 1994).

En esta región se encuentra el río Salado (Figura 1), un río de llanura de 600 km de longitud que discurre de oeste a este y posee una cuenca que abarca 150000 km² (Gabellone et al. 2003, 2005). Cuenta con una pequeña pendiente y es el afluente más meridional de la cuenca del río de La Plata. Es considerado de régimen perenne, fluctuante y tiene una gran interacción con las lagunas asociadas a su cuenca (Gabellone et al. 2001; Bettolli et al. 2009).

Dos de las lagunas estudiadas pertenecen a la cuenca superior del río Salado y están localizadas en el partido de Junín (Gómez [34°39' S - 61°2' O] y Carpincho [34°33' S - 60°53' O]), mientras que las otras dos lagunas pertenecen a la cuenca inferior del río Salado y están ubicadas en los partidos de Chascomús y Lezama (Chascomús [35°36' S - 58°02' O] y El Triunfo [35°51' S - 57°52' O]), respectivamente (Figura 1). La peculiaridad de estos cuerpos de agua es la interconectividad existente en tres de ellos (Chascomús, Gómez y Carpincho) mediante el río Salado. Por lo tanto, el balance hídrico de los mismos depende del aporte de aguas de origen fluvial que transporta el río, así como de sus tributarios naturales, canales artificiales e ingresos de aguas subterráneas y provenientes de las precipitaciones (Rosso 2008). El Triunfo corresponde a un sistema no conectado directamente con el río, alimentado por agua de lluvia y canales subterráneos. En el período estudiado, desde enero 2015 hasta enero 2016, no hubo inundaciones, por lo que la laguna no estuvo conectada al río.

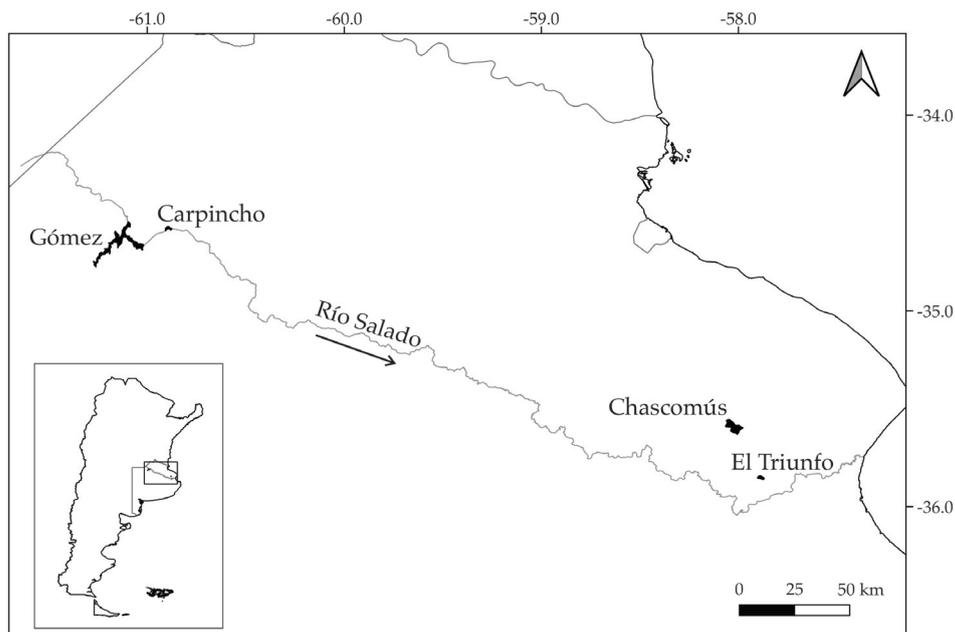


Figura 1. Ubicación geográfica de cada una de las lagunas estudiadas dentro de la Región Pampeana. La flecha sobre el mapa indica la dirección del río Salado.

Figure 1. Geographical location of each studied shallow lake at the Pampa Region. The arrow indicates the flow direction of the Salado River.

Estas lagunas tienen un origen fluvial-eólico, son permanentes, polimícticas, someras, con salinidad altamente variable, naturalmente eutróficas, y están sujetas a estrés ambiental (Ringuelet et al. 1967; Izaguirre and Vinocur 1994; Quirós and Drago 1999). En particular, El Triunfo se halla en un régimen de aguas claras y vegetadas, colonizadas por macrofitas (Allende et al. 2009). En cambio, las lagunas Chascomús, Carpincho y Gómez se encuentran en un estado de aguas turbias, caracterizadas por una escasa profundidad de disco de Secchi y una alta abundancia de fitoplancton (Allende et al. 2009; Schiaffino et al. 2019).

Muestreos, parámetros físicos y químicos

Se tomaron muestras estacionales (enero, abril, julio y octubre) y simultáneas en las cuatro lagunas desde enero 2015 hasta enero 2016. En cada sitio y fecha se obtuvo una muestra de los primeros 30-40 cm de profundidad de la columna de agua, en la zona central o pelágica de cada laguna. Se recolectaron muestras para determinar fósforo reactivo soluble (PRS), fósforo total (PT), nitrógeno total Kjeldahl (NTK), sólidos totales en suspensión o seston (SS), sólidos orgánicos en suspensión (SOS), sólidos inorgánicos en suspensión (SIS) y clorofila-a (Chl-a). El análisis de nutrientes disueltos se

realizó luego de filtrar volúmenes conocidos de agua de cada laguna a través de filtros de microfibras de vidrio (Whatman® GF/F, 0.7 µm). Las determinaciones de PRS y PT se realizaron mediante técnicas espectrofotométricas (APHA 2005). El NTK se determinó por el Método semi-micro Kjeldahl (APHA 1992). La concentración de SS se obtuvo a partir del filtrado de volúmenes conocidos de agua a través de filtros Whatman® GF/F previamente muflados y pesados. Estos filtros se dejaron secar en estufa (100-105 °C) hasta peso constante (APHA 1992). Para obtener los SOS, los filtros con el material seco retenido fueron calcinados a 500 °C por tres horas. Luego de la calcinación, fueron pesados nuevamente y por diferencia se estimó el contenido de SOS y SIS. Finalmente, se estimó la concentración de Chl-a mediante espectrofotometría antes y después de la acidificación con HCl (1N), utilizando etanol caliente (60-70 °C) como solvente de extracción (Marker et al. 1980). Además, se midió *in situ* la profundidad en el sitio de muestreo, el pH, la conductividad eléctrica, la temperatura, el oxígeno disuelto (OD) y la turbidez nefelométrica mediante el uso de sensores de campo (HANNA® pH/cond meter HI991301, HANNA® HI9146 y HACH® 2100P Turbidimeter), y la profundidad del disco de Secchi. Para estudiar el bacterioplancton, las muestras se prefiltraron a través de una

membrana de 55 μm de poro, luego filtradas por filtros de 0.2 μm (Millipore™ GTTP) y almacenadas a - 80 °C (Schiaffino et al. 2020).

Extracción de ADN ambiental, secuenciación masiva y análisis bioinformático

A partir del material retenido en los filtros, se realizó la extracción de ADN mediante un protocolo con el detergente catiónico bromuro de hexadeciltrimetilamonio, cloroformo y alcohol isoamílico (Fernández Zenoff et al. 2006), como se detalla en Llamas et al. (2013). La secuenciación parcial del gen ARNr 16S fue realizada mediante el secuenciador Illumina MiSeq (2x300pb) en Macrogen Corea. Se utilizaron los cebadores (primers) universales 341F y 805R diseñados por Herlemann et al. (2011), correspondientes a las regiones variables V3-V4 del gen. Los mismos generaron fragmentos con un tamaño de ~464 pb. Las muestras se procesaron utilizando el algoritmo DADA2 v1.10.0 (Callahan et al. 2016), después de la eliminación de *primers* usando Cutadapt 1.18 (Martin 2011). Para definir los parámetros de calidad, las muestras se analizaron primero utilizando la función `fastx_eestat` y `fastx_info` de USEARCH v10.0.240 (Edgar and Flyvbjerg 2015). En función a estos resultados, las muestras se filtraron utilizando la función `filterAndTrim` (DADA2) con los siguientes valores de calidad: `maxEE=c(2,2)` y `truncLen=c(250,220)`. La asignación taxonómica de los amplicones o ASVs (*Amplicon Sequence Variant*) fue realizada con BLAST (Altschul et al. 1990) utilizando la base de datos SILVA (SSURef 132 Nr99) (Quast et al. 2013; Yilmaz et al. 2014). Los ASVs asignados a Archaea, mitocondrias y cloroplastos fueron omitidos del análisis. Con el fin de reducir el ruido por errores de secuenciación, se restringió el análisis a taxones con una abundancia superior a 50 lecturas y una frecuencia superior a 3 muestras. Después de este filtrado y limpieza de secuencias, el número de lecturas totales osciló entre 18973 (Gómez, enero 2016) y 51773 (Chascomús, julio 2015). Las secuencias fueron depositadas en la base de datos pública del Archivo Europeo de Nucleótidos (ENA) con los números de acceso a los siguientes proyectos: PRJEB37379 y PRJEB46122.

Análisis estadísticos

Se cuantificó y comparó el estado trófico de cada laguna mediante el Índice de Estado Trófico (IT) (Adamovich et al. 2016), teniendo en cuenta los valores de Chl-a, PT y Secchi. Luego, se llevó a cabo el promedio de los

tres índices, permitiendo clasificar el estado trófico de los distintos cuerpos de agua en meso-eutrófico (30 a 50), eutrófico (50 a 60) e hipereutrófico (>70) (Adamovich et al. 2016).

Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el software R (R versión 3.4.4; R Core Team 2018) y los paquetes `pspearman` (Savicky 2014), `vegan` (Oksanen et al. 2017), `Ade4` (Dray and Dufour 2007) y `ecodist` (Goslee and Urban 2007). Para estudiar la asociación entre las distintas variables medidas, se realizaron correlaciones de Spearman. La importancia de las variables ambientales de las cuatro lagunas y sus patrones generales fueron explorados usando un análisis de componentes principales (ACP) sobre la matriz de variables ambientales estandarizadas.

Para analizar la profundidad de secuenciación y evaluar si la riqueza de ASVs de cada muestra fue adecuada, se efectuaron curvas de rarefacción luego de eliminar los errores de secuenciación. Posteriormente, para estudiar los patrones de diversidad alfa del bacterioplancton, comparar las diferentes muestras y eliminar la desigual profundidad de secuenciación en cada una, se rarefaccionó la matriz de ASVs (i.e., se submuestreo a través de un proceso iterativo para llevar a todas las muestras al mismo número de lecturas) teniendo en cuenta la muestra con el menor número de lecturas (i.e., 18973 lecturas, correspondiente a Gómez enero 2016). A partir de los datos, se calcularon los índices de Shannon ($H' = -\sum p_i \ln p_i$), Simpson recíproco ($D = 1/\sum p_i^2$) y Equitatividad de Pielou ($E_H = H' / \ln S$), así como también la riqueza total de ASVs para cada fecha y laguna estudiada. Para comparar los distintos parámetros físicos y químicos y los diferentes índices de diversidad alfa del bacterioplancton (riqueza, Shannon, Simpson y Equitatividad) entre las lagunas, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (H) y las comparaciones múltiples de Mann-Whitney (U).

Por otro lado, la matriz de ASVs bacterianos fue transformada por Hellinger antes de llevar a cabo los análisis estadísticos multivariados (Legendre and Gallagher 2001). Con el fin de explorar el ordenamiento espacial y temporal de las lagunas en función de su composición bacteriana, se realizó un análisis de escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS), utilizando el índice de Bray-Curtis (Legendre and Legendre 1998). Para estudiar la influencia de cada variable ambiental sobre la composición del bacterioplancton

se utilizó la función envfit (vegan), la cual permite correlacionar los principales ejes de ordenación del análisis NMDS con las variables explicativas. Además, para evaluar estadísticamente el grado de semejanza de la composición del bacterioplancton entre lagunas, se realizó un análisis de similitud (ANOSIM), utilizando el índice de Bray-Curtis. Para estudiar la asociación entre la similitud ambiental y la distancia espacial versus la similitud en la composición del bacterioplancton, se realizaron correlaciones de Mantel simple y parcial (Mantel and Valand 1970), basadas en el coeficiente de correlación de Spearman. La matriz de similitud ambiental fue obtenida a partir de los datos ambientales estandarizados y empleando la fórmula 1- distancia Euclidiana. La matriz de distancia espacial fue obtenida a partir de la posición geográfica de cada laguna (latitud y longitud) y la distancia Euclidiana. La matriz de similitud composicional de la comunidad del bacterioplancton fue obtenida a partir de la matriz de ASV aplicando el índice de Bray-Curtis.

RESULTADOS

Variables ambientales

La temperatura del agua siguió una tendencia estacional, presentando valores mínimos en invierno y máximos en verano (Figura 2a), mientras que el OD mostró un patrón de variación inverso (Figura 2b). Las concentraciones de OD de las lagunas Carpincho y Gómez fueron significativamente inferiores a las de Chascomús ($H=9.2$, $P=0.027$). Sin embargo, las concentraciones de OD en El Triunfo no difirieron significativamente con el resto de las lagunas (El Triunfo-Chascomús $U=1$, El Triunfo-Gómez $U=1$, El Triunfo-Carpincho $U=0.86$, todos $P>0.05$). Los valores de pH y conductividad registrados correlacionaron entre sí (Material Suplementario-Figura 1), y resultaron dentro del rango típico para las lagunas de la región (Figura 2c, d, respectivamente). Los valores de conductividad mostraron una gran sincronía entre lagunas pertenecientes a la misma cuenca en todas las fechas estudiadas (Figura

Tabla 1. Variables meteorológicas y parámetros físicos, químicos y biológicos medidos en las cuatro lagunas pampeanas. DE: desvío estándar, Máx: máximos, Mín: mínimos, PAM: precipitación acumulada mensual, TMA: temperatura media mensual del aire, PPM: profundidad del punto de muestreo, T: temperatura, OD: oxígeno disuelto, CE: conductividad eléctrica, SOS: sólidos orgánicos en suspensión, SIS: sólidos inorgánicos en suspensión. PT: fósforo total, PRS: fósforo reactivo soluble, NTK: nitrógeno total Kjeldahl, Chl-a: clorofila-a, IT: índice de estado trófico.

Table 1. Meteorological variables and physical, chemical and biological parameters measured in the four Pampean shallow lakes. DE: standard deviation, Máx: maximum, Mín: minimum, PAM: monthly cumulative precipitation, TMA: average monthly air temperature, PPM: sampling point depth, T: temperature, DO: dissolved oxygen, CE: electric conductivity, SOS: suspended organic solids, SIS: suspended inorganic solids. PT: total phosphorus, PRS: soluble reactive phosphorus, NTK: total Kjeldahl nitrogen, Chl-a: chlorophyll-a, IT: trophic state index.

	Gómez				Carpincho				Chascomús				El Triunfo			
	Media	DE	Máx.	Mín.	Media	DE	Máx.	Mín.	Media	DE	Máx.	Mín.	Media	DE	Máx.	Mín.
PAM (mm)	119.4	44.0	186.2	72.0	119.4	44.0	186.2	72.0	114.8	89.0	213.8	0.0	114.8	89.0	213.8	0.0
TMA (°C)	17.2	4.8	23.3	10.1	17.2	4.8	23.3	10.1	16.9	4.5	22.9	9.7	16.9	4.5	22.9	9.7
Área (km ²)	67.7	6.8	76.2	60.2	3.1	0.0	3.2	3.0	29.2	0.1	29.4	28.9	3.7	0.2	3.9	3.3
PPM (m)	1.4	0.1	1.6	1.3	1.4	0.1	1.5	1.3	2.2	0.4	2.7	1.8	1.4	0.4	1.7	1.1
Secchi (cm)	14.4	3.3	18.0	9.0	13.9	2.9	18.0	10.0	11.6	4.0	16.0	6.0	26.4	5.0	34.0	20.0
T (°C)	19.3	6.2	26.0	9.2	18.5	6.0	25.2	8.9	19.1	5.6	24.3	11.0	21.2	7.1	27.0	9.0
OD (mg/L)	8.3	3.8	9.3	7.2	7.3	0.7	8.4	6.5	10.0	1.4	11.7	8.5	9.0	2.2	12.6	7.0
pH	8.9	0.2	9.1	8.6	8.9	0.2	9.1	8.6	8.7	0.2	9.0	8.5	8.3	0.4	8.7	7.7
CE (µS/cm)	3944	879	4860	2630	3864	879	4590	2670	945	157	1126	776	1462	206	1700	1230
Turbidez (ntu)	112.2	65.1	225.0	62.0	93.8	35.0	152.0	60.0	149.4	87.6	235.0	52.6	15.4	9.7	24.7	2.0
Seston (mg/L)	136.4	71.0	257.0	71.0	111.6	41.0	167.0	65.0	167.8	85.3	252.5	70.0	26.2	11.7	41.0	12.0
SOS (mg/L)	44.4	18.6	75.0	28.0	39.6	14.2	55.0	21.0	42.2	8.5	48.8	28.7	25.3	12.9	41.0	9.0
SIS (mg/L)	92.0	53.1	182.0	43.0	72.0	28.1	115.0	44.0	125.6	77.5	203.7	41.3	0.9	1.3	3.0	0.0
PT (mg/L)	0.8	0.2	1.1	0.6	0.7	0.3	1.1	0.4	0.5	0.2	0.6	0.3	0.3	0.3	0.6	0.0
PRS (mg/L)	0.5	0.4	0.9	0.2	0.5	0.2	0.7	0.3	0.2	0.1	0.3	0.0	0.2	0.2	0.5	0.0
NTK (mg/L)	4.2	0.9	5.2	2.9	4.7	1.2	6.7	3.7	4.3	0.6	5.0	3.7	5.6	1.8	7.8	3.9
Chl-a (µg/L)	124.1	96.8	293.9	54.4	136.4	90.9	293.9	63.1	80.1	32.6	124.0	43.0	23.3	10.1	39.2	15.2
IT	88.3	2.7	92.0	85.1	89.0	3.8	91.7	82.4	86.0	3.8	89.1	80.7	68.2	13.9	81.7	49.2

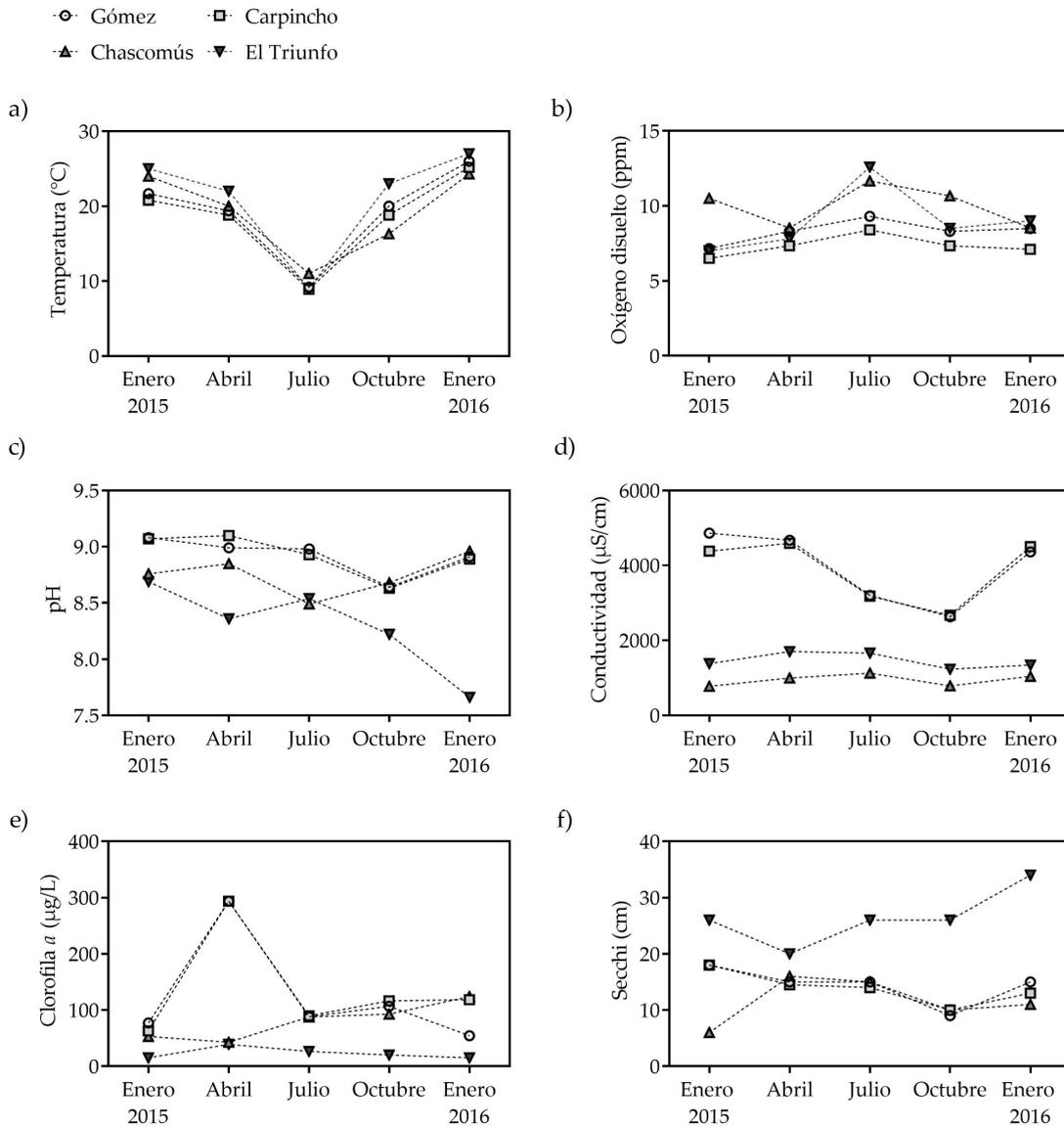


Figura 2. Dinámica temporal de a) la temperatura del agua, b) el oxígeno disuelto, c) el pH, d) la conductividad, e) la clorofila-a, y f) la profundidad del disco de Secchi durante el período de estudio (enero 2015-enero 2016) en las cuatro lagunas.

Figure 2. Temporal dynamic of a) water temperature, b) dissolved oxygen, c) pH, d) conductivity, e) chlorophyll a, and f) Secchi depth during the study period (January 2015-January 2016) in the four shallow lakes.

2d) y fueron significativamente mayores en las lagunas Gómez y Carpincho en comparación con Chascomús y El Triunfo ($H=16.1$, $P=0.0011$) (Tabla 1).

La turbidez, la profundidad del disco de Secchi, los SS y la Chl-a reflejaron el régimen que caracteriza a cada laguna (Tabla 1) y se correlacionaron significativamente (Material Suplementario-Figura 1). El régimen claro de El Triunfo se vio reflejado en los bajos valores de turbidez, altos valores de Secchi y valores significativamente menores de Chl-a ($H=11.7$,

$P=0.0084$) (Tabla 1 y Figura 2e) en comparación con las demás lagunas, mientras que el régimen turbio fitoplanctónico de Gómez, Carpincho y Chascomús se evidenció por una menor profundidad del disco de Secchi (Figura 2f), valores altos de turbidez y de Chl-a (Figura 2e). Además, las lagunas Gómez, Carpincho y Chascomús presentaron valores significativamente mayores de SIS, en comparación con los valores del El Triunfo ($H=11.0$, $P=0.0118$) (Tabla 1). En cuanto a las características de El Triunfo, los valores registrados para las variables citadas fueron

inversos en relación a las tres lagunas restantes, aumentando aún más su transparencia hacia finales del período estudiado (julio 2015-enero 2016) (Figura 2f).

Las concentraciones de PT variaron significativamente entre cuencas (Figura 3a), con mayores valores registrados en Carpincho y Gómez en comparación con El Triunfo y Chascomús ($H=9.8$, $P=0.0202$) (Figura 3b). La variación temporal del PT fue sincronizada entre las lagunas de la cuenca superior, donde el aumento de este nutriente fue progresivo desde el inicio del estudio, con un pico máximo en octubre que coincidió con el aumento de las precipitaciones para la época (137 mm acumulada mensual). Un comportamiento opuesto se observó para las lagunas de la cuenca inferior (Figura 3a). Asimismo, el PT se correlacionó positivamente con la Chl-a (Material Suplementario-Figura 1). Con respecto al NTK, no se observaron

diferencias significativas entre lagunas ($H=1.7$, $P=0.6415$) (Figura 3d); sin embargo, en enero de 2016, la concentración aumentó para El Triunfo, al contrario de lo sucedido para las demás lagunas (Figura 3c). A partir de las concentraciones de Chl-a, PT y los valores de Secchi, se calculó el IT y se observó que todas las lagunas se encontraron en un estado hipereutrófico durante el período del estudio, excepto El Triunfo que alternó entre un estado eutrófico e hipereutrófico (Tabla 1).

Los primeros dos ejes del ACP explicaron un 79.8% de la variabilidad en las lagunas (Material Suplementario-Figura 2). El primer eje (53.6%) estuvo definido principalmente por el pH ($r=0.86$), la conductividad eléctrica ($r=0.75$), el PT ($r=0.81$) y el Secchi ($r=-0.72$), mientras que el segundo eje (26.2%) estuvo principalmente explicado por OD ($r=0.77$). Las dos lagunas pertenecientes a la cuenca superior se ordenaron del lado derecho

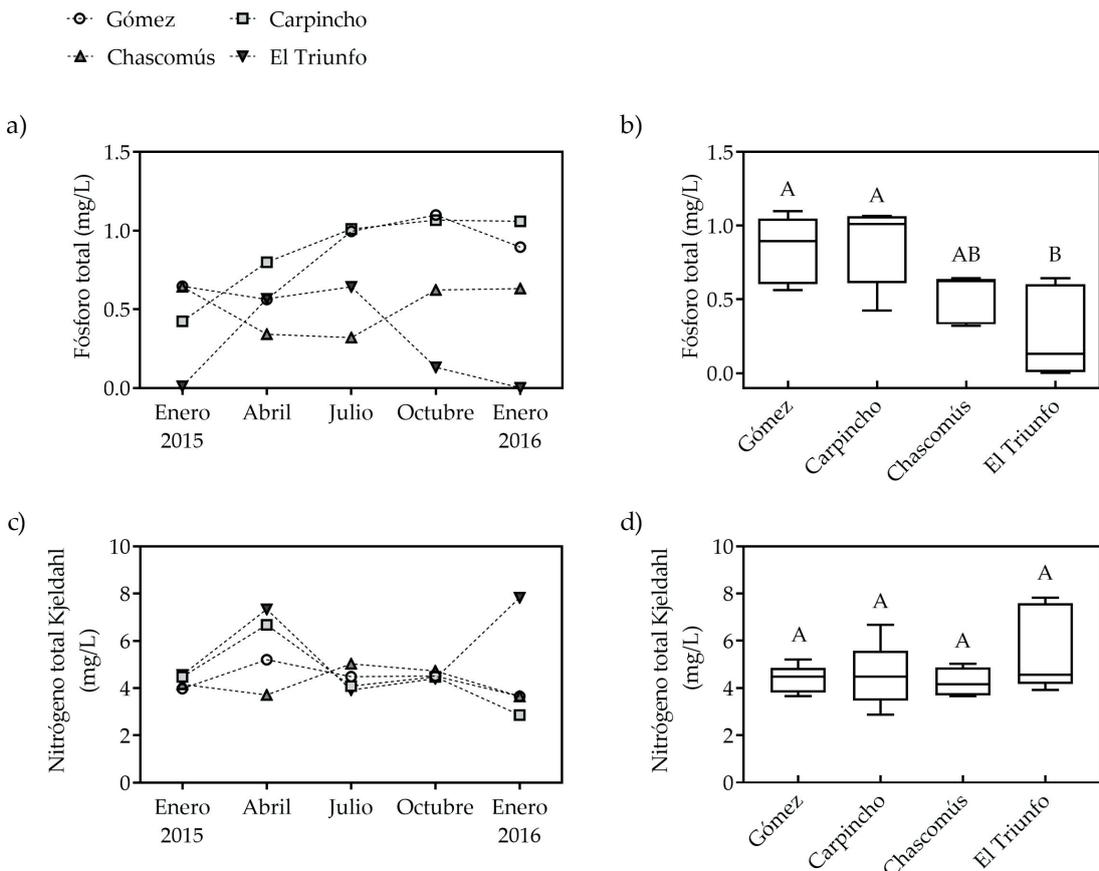


Figura 3. Dinámica temporal (a) y diagrama de cajas (b) del fósforo total para cada sistema estudiado. Dinámica temporal (c) y diagrama de cajas (d) del nitrógeno total Kjeldahl para cada laguna estudiada. Letras diferentes representan diferencias significativas ($P<0.05$) en las comparaciones múltiples de Mann-Whitney.

Figure 3. Temporal dynamic (a) and box plot graph (b) of total phosphorus. Temporal dynamic (c) and box plot graph (d) of total Kjeldahl nitrogen for each shallow lake during the study period. Different letters represent significant differences ($P<0.05$) in Mann-Whitney *post-hoc* comparisons.

del biplot hacia mayores valores de pH, PT y conductividad eléctrica. Las lagunas pertenecientes a la cuenca inferior se ordenaron principalmente del lado izquierdo del biplot (excepto Chascomús, enero-2016). Asimismo, El Triunfo se ordenó junto a mayores valores de Secchi, mientras que Chascomús hacia mayores valores de OD.

Riqueza, diversidad y composición del bacterioplancton

Las curvas de rarefacción indicaron que la riqueza de ASV tendió a alcanzar una meseta, sugiriendo que la profundidad de muestreo y cobertura de secuenciación fue satisfactoria (Figura Suplementaria 3). La riqueza del bacterioplancton resultó significativamente más baja en El Triunfo, en comparación con el resto de las lagunas ($H=14.9$, $P=0.0019$) (Figura 4a), mientras que la equitatividad también resultó significativamente menor en El Triunfo que en el resto de las lagunas ($H=7.7$, $P=0.049$), con excepción de Chascomús (Figura 4b). Los índices de diversidad de Shannon y Simpson fueron significativamente diferentes entre las

lagunas de la cuenca superior y las lagunas de la cuenca inferior del río Salado ($H=14.9$, $P=0.0019$; $H=10.3$, $P=0.0164$, respectivamente), siendo inferiores en estas dos últimas (Figura 4c, d). Sin embargo, el número de ASVs exclusivos en Chascomús y El Triunfo (404 y 318, respectivamente) resultó ser más del doble que el número de ASVs exclusivos en Gómez y Carpincho (160 y 144, respectivamente). Asimismo, la cantidad de ASVs compartidos entre estas dos últimas lagunas, fue más elevado (845 ASVs) que para cualquiera de las otras combinaciones (Material Suplementario-Figura 4).

La composición del bacterioplancton a nivel de filo y clase resultó similar entre las lagunas de la cuenca superior del río Salado. En promedio, en ambas lagunas el grupo Actinobacteria representó alrededor del 19% del total de lecturas, seguidas de Bacteroidota (~18%), Cyanobacteria (~13%), Verrucomicrobia (~12%) y Gammaproteobacteria (~11%) (Figura 5). Por otro lado, la composición del bacterioplancton a nivel de filo y clase de las lagunas de la cuenca inferior difirió no sólo con las de las

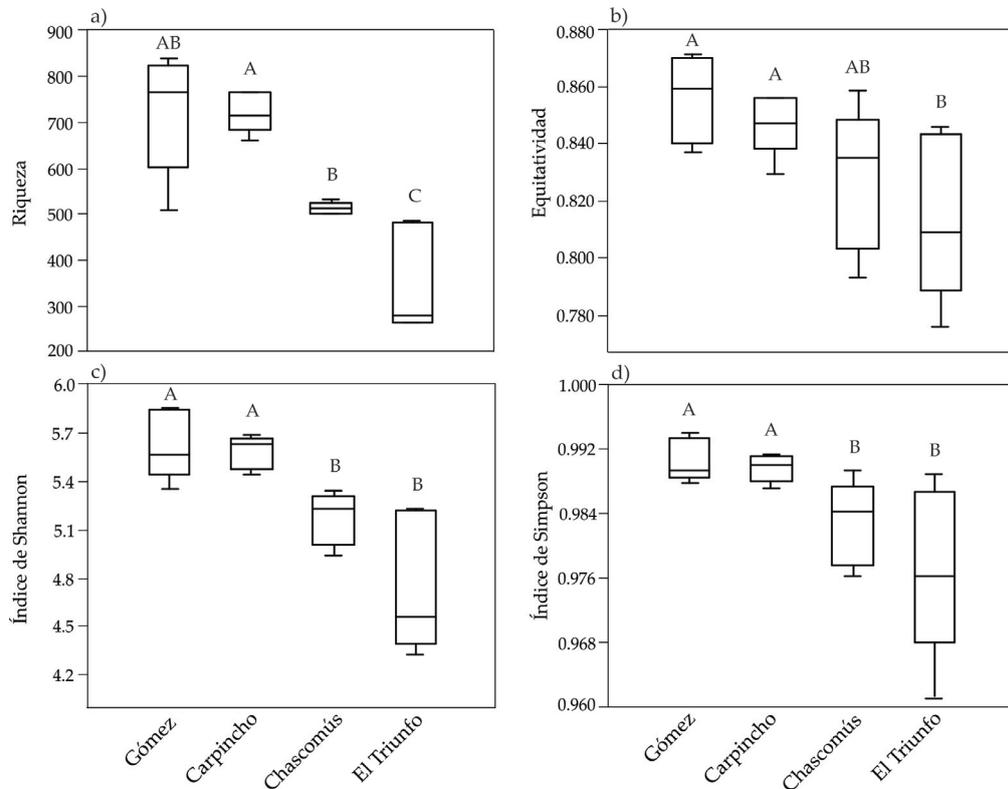


Figura 4. Diagrama de cajas de la riqueza (a), la equitatividad (b) y la diversidad de Shannon (c), y Simpson (d) del bacterioplancton en cada laguna estudiada. Letras diferentes representan diferencias significativas ($P<0.05$) en las comparaciones múltiples de Mann-Whitney.

Figure 4. Box plot graphs of bacterioplankton richness (a), evenness (b) and diversity of Shannon (c), and Simpson (d) indexes in each studied shallow lake. Different letters represent significant differences ($P<0.05$) in Mann-Whitney *post-hoc* comparisons.

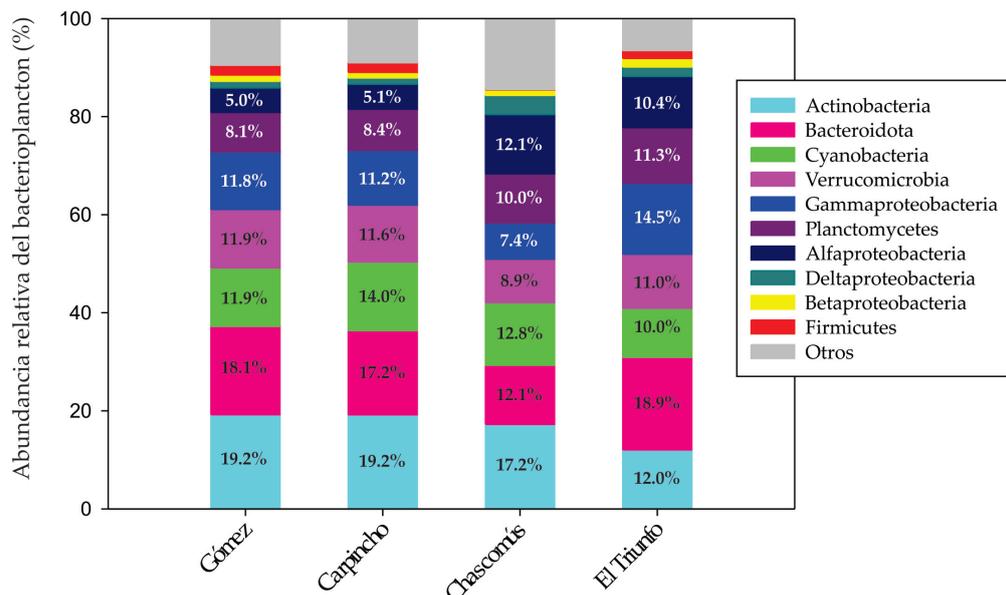


Figura 5. Abundancia relativa (número de lecturas) de los principales grupos bacterianos en cada laguna.

Figure 5. Relative abundance (number of reads) of the main bacterioplankton groups in each shallow lake.

de la cuenca superior, sino también entre sí. En la laguna Chascomús, Actinobacteria fue también el grupo mejor representado (~17%), seguido de Cyanobacteria (~13%), Bacteroidota (~12%), Alfaproteobacteria (~12%) y Planctomycetes (~10%). En cambio, en El Triunfo el grupo Bacteroidota representó alrededor del 19% del total de lecturas, seguido de Gammaproteobacteria (~14%), Actinobacteria (~12%), Planctomycetes (~11%) y Verrucomicrobia (~11%) (Figura 5). En particular, los ASVs que estuvieron presentes en todas las lagunas y fechas de muestreo resultaron dominantes (>1% del número total de lecturas en una muestra dada) y pertenecieron al filo *Alphaproteobacteria*: SAR11_Clado III y *Candidatus* Megaira polyxenophila.

Factores ambientales relacionados con la composición bacteriana

En el análisis NMDS se observó un ordenamiento diferencial de acuerdo al régimen de los sistemas acuáticos y a su ubicación en la cuenca del río Salado (Figura 6). Las muestras de las lagunas con régimen turbio (Gómez, Carpincho y Chascomús) se ordenaron juntas hacia la izquierda del primer eje y las de la laguna de régimen claro (El Triunfo) se ordenaron hacia la derecha del mismo, junto a mayores valores de Secchi. En El Triunfo, la composición del bacterioplankton al inicio del estudio (enero

y abril 2015) resultó más similar a la de las lagunas con régimen turbio, composición que fue cambiando progresivamente a un sistema de aguas claras al finalizar el mismo (julio 2015-enero 2016). Asimismo, las lagunas turbias Gómez y Carpincho se ordenaron en la parte inferior del eje 2, junto a mayores valores de conductividad eléctrica, pH y PT y Chascomús en la parte superior del mismo, junto a mayores valores de SIS y SOS (Figura 6). La prueba de similitud (ANOSIM) evidenció que la composición del bacterioplankton fue significativamente diferente entre todas las lagunas, excepto entre las lagunas Gómez y Carpincho ubicadas en la cuenca superior del río (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de Similitud (ANOSIM $R=0.71$, $P<0.0001$) y significancia de las comparaciones de a pares (significación de Bonferroni secuencial) de la composición del bacterioplankton entre lagunas, utilizando el índice de disimilitud de Bray-Curtis.

Table 2. Analysis of Similarity (ANOSIM $R=0.71$, $P<0.0001$) and significance of the pairwise comparisons (sequential Bonferroni significance) of the composition of the bacterioplankton between lakes using the Bray-Curtis similarity index.

	P-valores
Gómez - Carpincho	0.9145
Gómez - Chascomús	0.0073*
Gómez - El Triunfo	0.0073*
Carpincho - Chascomús	0.0080*
Carpincho - El Triunfo	0.0075*
Chascomús - El Triunfo	0.0085*

*Valores significativos $P<0.05$

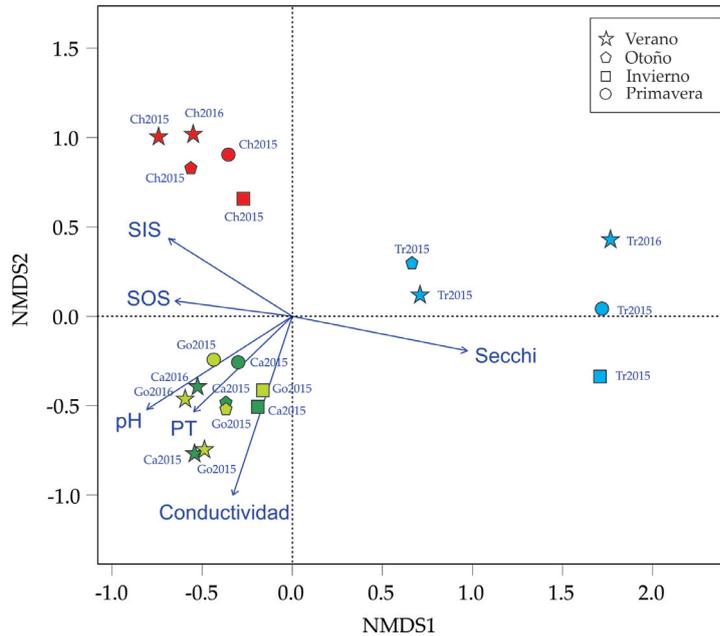


Figura 6. Biplot del escalamiento multidimensional no-métrico (NMDS) obtenido a partir de la composición del bacterioplancton (matriz transformada por Hellinger) y empleando el índice de Similitud Bray Curtis. Las flechas indican las correlaciones significativas ($P < 0.05$) entre las variables y los ejes del análisis de ordenamiento, y se calcularon pasivamente utilizando la función envfit. Los símbolos verdes claros corresponden a Gómez, los verdes oscuros a Carpincho, los rojos a Chascomús y los celestes a El Triunfo.

Figure 6. Biplot of the non-metric multidimensional scaling (NMDS) obtained from the bacterioplankton composition (Hellinger-transformed) and the Bray Curtis Similarity Index. Arrows indicate the significant correlations ($P < 0.05$) between the environmental variables and the ordination axes, and were calculated using the envfit function. The light green symbols correspond to Gómez, the dark green ones to Carpincho, the red ones to Chascomús and the blue ones to El Triunfo.

Tabla 3. Resultados de las pruebas de Mantel simple y parcial mostrando las correlaciones entre la similitud del bacterioplancton vs. la matriz de similitud ambiental y la distancia espacial. En la prueba de Mantel parcial realizamos la correlación entre dos matrices, controlando los efectos de una tercera matriz (espacial o ambiental).

Table 3. Results of simple and partial Mantel test showing the correlations of bacterioplankton similarity matrix versus the similarity environmental matrix and the spatial distance. In the partial Mantel test we performed correlations between two matrices, while controlling for the effect of a third matrix (spatial or environmental).

	Simple		Parcial	
	r	P	r	P
Bacterioplancton - ambiental	0.67	$P < 0.0001$		
Bacterioplancton - espacial	-0.64	$P < 0.0001$		
Ambiental - espacial	-0.54	$P < 0.0001$		
Bacterioplancton - ambiental (espacial)			0.59	$P < 0.0001$
Bacterioplancton - espacial (ambiental)			-0.52	$P < 0.0001$

Por otro lado, el análisis de Mantel mostró que la similitud en la composición del bacterioplancton aumentó al incrementarse la similitud ambiental y al disminuir la distancia espacial entre las lagunas (Tabla 3). Asimismo, se observó que las variables ambientales estaban espacialmente estructuradas, disminuyendo la similitud de las variables ambientales de las lagunas al aumentar la distancia espacial entre ellas (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo mostraron que existen diferencias sustanciales en la estructura del bacterioplancton en los sistemas acuáticos pampeanos estudiados, y que esta variación fue explicada tanto por factores ambientales como espaciales. No sólo se observaron

diferencias en la riqueza, la diversidad y la composición del bacterioplancton entre las lagunas pertenecientes a la cuenca superior e inferior del río Salado, sino también entre lagunas con diferente régimen o conectividad a dicho río. En particular las lagunas estudiadas de la cuenca superior presentaron una mayor diversidad y una composición diferencial con respecto a las lagunas de la cuenca inferior. Además, la similitud en la composición del bacterioplancton (diversidad beta) disminuyó con la distancia espacial entre las lagunas estudiadas en ambas cuencas, y fue similar en lagunas con características ambientales similares.

Por un lado, las lagunas de la cuenca superior e inferior, además de presentar un distanciamiento espacial se caracterizaron por

mostrar variables ambientales y limnológicas disímiles (i.e., diferencias significativas en los valores de PT y conductividad). En coincidencia, los parámetros ambientales que difirieron significativamente entre cuencas, también fueron parte de las variables ambientales más importantes en explicar la variación en la composición del bacterioplancton de las lagunas estudiadas (Figura 6). En particular, se ha demostrado que las concentraciones de fósforo tienen una gran influencia sobre la composición de las comunidades bacterianas de lagunas someras altamente perturbadas (e.g., Tong et al. 2005). Fermani et al. (2015) observaron una fuerte correlación positiva entre el PT y las abundancias de bacterias heterotróficas en sistemas acuáticos pampeanos, sugiriendo que la disponibilidad de recursos regula la comunidad bacterioplanctónica de estos sistemas. En coincidencia con nuestros resultados, Wang et al. (2019) encontraron que el PT, la conductividad y el Secchi, entre otros factores, influyeron sobre la composición del bacterioplancton en el lago eutrófico Erhai en China.

Los sistemas acuáticos estudiados en el presente trabajo se encontraron en un estado hipereutrófico durante el período de muestreo ($IT > 70$). No obstante, El Triunfo osciló entre un estado eutrófico e hipereutrófico, característica generalmente observada en grandes lagunas pampeanas (Quirós et al. 2002a). En particular, las lagunas claras se caracterizan por presentar menores niveles de turbidez y de Chl-a, junto con menores concentraciones de PT (Llames et al. 2013), pudiendo oscilar alternativamente entre un estado claro vegetado y un estado turbio fitoplanctónico (Quirós et al. 2002a). Sin embargo, desde el comienzo del siglo XIX la Región Pampeana ha sufrido un incremento e intensificación de las actividades agrícola-ganaderas (Viglizzo et al. 2001), junto a un mayor crecimiento poblacional, por lo que muchas lagunas pampeanas han alternado hacia estados de aguas turbias fitoplanctónicas con una concomitante eutrofización progresiva (Quirós et al. 2002a, 2006). Las concentraciones de nutrientes y demás características limnológicas de los sistemas acuáticos dependen tanto de la cuenca a la que pertenecen, como del uso de suelo en sus alrededores (Quirós et al. 2002a; 2006; Carpenter et al. 2011). En un estudio previo realizado en estas lagunas, en el que se evaluó el efecto del uso de suelo sobre la comunidad fitoplanctónica, se observó que la proporción

de tierra dedicada a agricultura es en general mayor en las áreas circundantes a las lagunas de la cuenca superior del río Salado, y que las lagunas pertenecientes a la cuenca inferior en general perciben una predominancia de pasturas dedicadas a la ganadería (Sánchez et al. 2021). Estos autores reportaron mayores valores de conductividad y PRS en lagunas de la cuenca superior. Por otro lado, Taranu y Gregory-Eaves (2008) demostraron que especialmente en lagos poco profundos ubicados en cuencas hidrográficas con poca pendiente, la proporción de suelo utilizada en agricultura se correlaciona de manera positiva con el total de fósforo en los sistemas acuáticos. Coincidentemente, en las lagunas de la cuenca superior estudiadas en el presente trabajo, también se evidenciaron mayores valores de conductividad y PT que en las lagunas de la cuenca inferior; es probable que estas diferencias se relacionen con las características propias de la cuenca del río Salado y del uso o la cobertura del suelo (Gabellone et al. 2005; Sánchez et al. 2021). Aunque en este trabajo no se analizó el uso de suelo alrededor de las lagunas, los menores valores de PT en la cuenca baja (que coincidieron con el aumento de precipitaciones) podrían estar relacionados a un efecto de dilución, contrario al efecto de la escorrentía observado en las lagunas pertenecientes a la cuenca superior. Castro Berman et al. (2018) obtuvieron resultados similares en lagunas pampeanas, al igual que Hébert et al. (2018) en sistemas acuáticos superficiales de Canadá y Estados Unidos. Asimismo, las variables ambientales medidas en las lagunas se encontraron espacialmente estructuradas y, por lo tanto, la similitud en dichas variables disminuyó al aumentar la distancia espacial entre las lagunas. En particular, la salinidad elevada en la cuenca superior del río Salado se debe a que se encuentra ubicada en un acuífero sedimentario rico en cloruro de sodio (Gabellone et al. 2005). Además, esta zona recibe descargas de agua desde la zona endorreica de la Pampa Arenosa a través de canales artificiales que en las últimas décadas alteraron el régimen hidrológico y favorecieron la movilización de sales desde el agua subterránea salina al cauce superior del río Salado y a sus lagunas asociadas (Bazzuri et al. 2018).

Por otro lado, las lagunas estudiadas presentan un grado de conectividad hidrológica variable entre ellas y con el río Salado (Gabellone et al. 2005, 2008; Bazzuri et al. 2018; Schiaffino et al. 2019); Gómez y

Carpincho se conectan directamente entre sí a través del río, la laguna Chascomús lo hace mediante otras lagunas y El Triunfo sólo se conecta durante los períodos de inundación. El grado de conectividad de las lagunas al río, junto a las variaciones hidrológicas, son factores muy importantes en el efecto homogeneizador que ejerce el río sobre las comunidades biológicas (e.g., Bazzuri et al. 2018). El caudal y el régimen hidrológico son aspectos fundamentales en el intercambio de agua entre el río y los cuerpos de agua asociados, mediante el establecimiento de una ruta eficiente de dispersión (e.g., Simões et al. 2013).

Las lagunas ubicadas en la cuenca superior presentaron una composición y diversidad del bacterioplancton muy similar entre sí, además de una alta proporción de ASVs compartidos (Figuras 6, 7, 8 y Material Suplementario-Figura 4). Esto puede deberse a que ambas lagunas están directamente conectadas al río y se comportan como embalses naturales del mismo, además de estar próximas una a la otra (e.g., Rennella and Quirós 2006; Schiaffino et al. 2019). Estos sistemas relacionados físicamente evidencian el efecto homogeneizador del río sobre la estructura bacteriana y, por lo tanto, la similitud entre los taxones presentes. Por otra parte, en las lagunas de la cuenca inferior estudiadas, si bien la diversidad alfa del bacterioplancton fue en general menor (Figura 4), el número de ASVs exclusivos fue superior (Material Suplementario-Figura 4). Tanto Chascomús como El Triunfo presentaron el doble de ASVs exclusivos que las lagunas directamente conectadas al río (Gómez y Carpincho). Como se mencionó antes, Chascomús no presenta una conexión directa al río y lo hace mediante otras lagunas (El Burro, Adela, Tablilla, Chis Chis, Las Barrancas), lo cual puede explicar, en parte, lo observado. Además, durante el año de estudio, El Triunfo se encontraba completamente desconectada del río y alimentada sólo por agua de lluvia y/o aguas subterráneas, lo que generó una composición diferencial de bacterias, una menor riqueza y diversidad debido a la falta de ingresos externos provenientes del río. Esta limitación en la dispersión en épocas de sequía o aguas bajas tiene un factor estructurador muy importante en las comunidades biológicas en sistemas lénticos, lo cual afecta mucho las densidades de las poblaciones, la composición y diversidad de las comunidades (e.g., Lake 2003). En consecuencia, los tres sistemas

que poseen conexión permanente con el río Salado (Gómez, Carpincho y Chascomús) compartieron pocos ASVs con El Triunfo (7.6%); esto sugiere que la selección ambiental cumple un papel importante sobre la composición de estos sistemas a nivel regional, similar a lo que observaron Llames et al. (2017). Sin embargo, cabe destacar la posibilidad de que esta similitud de ASVs entre las cuatro lagunas esté influenciada por la capacidad de dispersión que tienen los microorganismos, ya sea mediante aves migratorias, vectores humanos o el transporte atmosférico (Dolan 2005). Algunos taxones microbianos pueden dispersarse globalmente, mientras que otros pueden hacerlo en cortas distancias, creando distribuciones no azarosas de los ensamblajes microbianos (Martiny et al. 2006). Se ha observado que no todos los microorganismos producen esporas, quistes y propágulos que pueden resistir la dispersión durante grandes distancias (Martiny et al. 2006), y que diferentes taxones bacterianos pueden diferir en su plasticidad funcional y en la facilidad para dispersarse y sobrevivir (Logue and Lindström 2008).

Asimismo, se observó que el régimen turbio/claro de las lagunas es otro de los factores estructuradores de las comunidades bacterianas de lagunas pampeanas (e.g., Llames et al. 2013, 2017), dado que se caracterizan por presentar estructuras de la red trófica muy diferentes (Muylaert et al. 2002). Llames et al. (2013, 2017) reportaron que las estructuras comunitarias del bacterioplancton en lagunas de la cuenca inferior del río Salado con regímenes contrastantes difirieron entre sí. De forma similar, en este trabajo se observó que la laguna clara y vegetada (El Triunfo) presentó una composición bacterioplanctónica diferente, influenciada por la transparencia del agua (Figura 6), a la encontrada en las lagunas de régimen turbio (Gómez, Carpincho y Chascomús), en donde los SIS, SOS, pH, PT y la conductividad ejercieron una influencia mayor (Figura 6). Para El Triunfo, además de la falta de conexión de esta laguna al río durante el período de estudio, su estado de aguas claras posiblemente haya influido en la composición del bacterioplancton. Diferentes estudios sugirieron una relación entre el régimen de un cuerpo de agua y la estructura de las comunidades bacterianas, y reportaron diferencias notables en la composición del bacterioplancton entre sistemas acuáticos turbios y sistemas acuáticos claros (e.g., Van der Gucht et al. 2001; Muylaert et al. 2002; Wu et al. 2007; Llames et al. 2013).

En cuanto a la composición del bacterioplancton, en las lagunas turbias los filo Actinobacteria, Bacteroidota y Cyanobacteria resultaron dominantes. En coincidencia, el grupo Cyanobacteria fue previamente registrado como dominante en otras lagunas poco profundas de la región, lo cual probablemente se relacione con las concentraciones elevadas de nutrientes —en particular el fósforo— registradas en ellas (Izaguirre and Vinocur 1994; Allende et al. 2009; Izaguirre et al. 2015; Castro Berman et al. 2020; Sánchez et al. 2021; O'Farrell et al. 2019, 2021). En particular, Castro Berman et al. (2020) relacionaron las altas concentraciones de fósforo con niveles elevados de picocianobacterias en lagunas pampeanas debido a que son capaces de metabolizar fosfonatos como el glifosato, uno de los herbicidas más utilizado en el mundo.

Las Actinobacterias son un filo cosmopolita y en general dominan en una gran variedad de sistemas acuáticos de agua dulce, mientras que los Bacteroidota en ocasiones pueden dominar las comunidades bacterianas de agua dulce, reportándose grandes abundancias de este filo luego de floraciones de cianobacterias (Newton et al. 2011, y citas allí mencionadas). Por otro lado, en la laguna clara El Triunfo, dos de los tres grupos mejor representados también fueron Bacteroidota (~19%) y Actinobacteria (~12%), mientras que el grupo Gammaproteobacteria fue el segundo en importancia (~14%). En general, los grupos Actinobacteria y Bacteroidota encontrados en las cuatro lagunas son los esperados de acuerdo a los linajes bacterianos más comunes en estos tipos de sistemas, donde la dominancia de la mayoría se relaciona con elevadas concentraciones de nutrientes como las registradas en las lagunas de este trabajo (e.g., Wu et al. 2007; Newton et al. 2011; Steven et al. 2011). En cambio, las Gammaproteobacterias suelen ser más abundantes en ambientes de agua salada como los océanos y lagos salinos; sin embargo, se consideran miembros transitorios en cuerpos de agua dulce, provenientes de fuentes antropogénicas o zoonóticas (Newton et al. 2011). Uno de los ASVs encontrados en todas las lagunas y fechas de muestreo fue SAR11_clado III (*Alphaproteobacteria*), el cual sorprendentemente fue reportado en aguas marinas como el grupo hermano de la *Alphaproteobacteria* LD12 (Newton et al. 2011). Otro de los ASVs presentes fue *Candidatus* Megaira polyxenophila (*Alphaproteobacteria*,

Rickettsiales, *Rickettsiaceae*), una bacteria endosimbiótica que fue identificada previamente en ciliados marinos y de agua dulce, en algas verdes y en lagos de Estados Unidos y China (Zaila et al. 2017), por lo que se pueden encontrar en una gran diversidad de huéspedes eucariotas que viven en hábitats marinos, salobres o de agua dulce (Pasqualetti et al. 2020).

A diferencia de trabajos antes publicados, este trabajo es el primero en comparar el bacterioplancton autotrófico y heterotrófico a nivel molecular, en lagunas que forman parte de las cuencas superior e inferior del río Salado, además de relacionar su estructura con los parámetros ambientales y la distancia espacial de las lagunas. Dada la elevada diversidad bacteriana y su capacidad para responder rápidamente a entornos cambiantes, estas comunidades pueden ser indicadores poderosos de la salud de los sistemas acuáticos, y apropiadas para predecir la estabilidad de los servicios ecosistémicos y la vulnerabilidad de los sistemas acuáticos ante los disturbios antrópicos. Este trabajo refuerza la idea de que conocer la ecología de las lagunas nos brinda la información necesaria para proponer medidas de protección, manejo y mitigación, con el fin de realizar un uso responsable y sostenible de estos ambientes.

En conclusión, los resultados de este trabajo están en línea con observaciones previas realizadas en ambientes pampeanos y en otros ambientes con características limnológicas similares (e.g., Van der Gucht et al. 2001; Muylaert et al. 2002; Gabellone et al. 2005; Wu et al. 2007; Llames, et al. 2013, 2017; Sánchez et al. 2021). Los resultados obtenidos respaldan la hipótesis general planteada, que propone que la estructura comunitaria del bacterioplancton de las lagunas ubicadas en la cuenca superior del río Salado difieren respecto a las comunidades que se desarrollan en lagunas estudiadas de la cuenca inferior, debido a las diferencias ambientales y espaciales. Esto presenta una evidencia más de que las diferencias ecológicas y ambientales entre las lagunas pueden influir de manera significativa en la composición de las comunidades bacterianas (e.g., Llames et al. 2017). Asimismo, no sólo la conexión e hidrología, el régimen y las variables ambientales y limnológicas pueden tener un impacto importante en el modelado de la estructura del bacterioplancton en las lagunas pampeanas, sino también el tipo de uso de suelo en el área circundante a

cada cuenca. Por lo tanto, sería fundamental incorporar a futuros estudios variables que proporcionen información directa sobre las actividades humanas y sus impactos en los cuerpos de agua y las comunidades bacterioplanctónicas.

AGRADECIMIENTOS. Este estudio fue financiado por el Proyecto de Redes PAMPA² (CONICET), el Proyecto PICT 2014-0918, PICT 2017-0891, PICTO 0006-2019 (ANPCYT, FONCYT), SIB 575-2019 (UNNOBA) y el Premio Tonolli 2016.

REFERENCIAS

- Adamovich, B. V., T. V. Zhukova, T. M. Mikheeva, R. Z. Kovalevskaya, and E. V. Luk'yanova. 2016. Long-term variations of the trophic state index in the Naro-chanskies Lakes and its relation with the major hydroecological parameters. *Water Resources* 43(5):809-817. <https://doi.org/10.1134/S009780781605002X>.
- Allende, L., G. Tell, H. Zagarese, A. Torremorell, G. Pérez, J. Bustingorry, R. Escaray, and I. Izaguirre. 2009. Phytoplankton and primary production in clear-vegetated, inorganic-turbid, and algal-turbid shallow lakes from the pampa plain (Argentina). *Hydrobiologia* 624(1):45-60. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9665-9>.
- Altschul, S. F., W. Gish, W. Miller, E. W. Myers, and D. J. Lipman. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215(3):403-10. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- APHA (American Public Health Association). 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington D.C.
- APHA (American Public Health Association). 2005. *Standard Methods for the Examination of Waters and Wastewater*, 21st ed. Washington D.C.
- Barbosa da Costa, N., V. Fugère, M. P. Hébert, C. C. Y. Xu, R. D. H. Barrett, B. E. Beisner, G. Bell, V. Yargeau, G. F. Fussmann, A. González, and B. J. Shapiro. 2021. Resistance, resilience, and functional redundancy of freshwater bacterioplankton communities facing a gradient of agricultural stressors in a mesocosm experiment. *Molecular Ecology* 30(19):4771-4788. <https://doi.org/10.1111/mec.16100>.
- Bazzari, M. E., N. A. Gabellone, and L. C. Solari. 2018. The effects of hydraulic works and wetlands function in the Salado-River basin (Buenos Aires, Argentina). *Environmental Monitoring and Assessment* 190(2):99. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6448-7>.
- Bettolli, M. L., W. M. Vargas, and O. C. Penalba. 2009. Soya bean yield variability in the Argentine Pampas in relation to synoptic weather types: monitoring implications. *Meteorological Applications* 16:501-511. <https://doi.org/10.1002/met.148>.
- Burgos, J. J., and A. L. Vidal. 1951. The climates of the Argentine Republic according to the new Thornthwaite classification. *Annals of the Association of American Geographers* 41(3):237-263. <https://doi.org/10.2307/2561011>.
- Cabrini, S. M., S. I. Portela, P. B. Cano, P. B., and D. A. López. 2019. Heterogeneity in agricultural land use decisions in Argentine Rolling Pampas: The effects on environmental and economic indicators. *Cogent Environmental Science* 5(1):1667709. <https://doi.org/10.1080/23311843.2019.1667709>.
- Callahan, B. J., P. J. McMurdie, M. J. Rosen, A. W. Han, A. J. A. Johnson, and S. P. Holmes. 2016. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* 13(7):581-3. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>.
- Castro Berman, M., M. E. Llamas, P. Minotti, P. Fermani, M. V. Quiroga, M. A. Ferraro, S. Metz, and H. E. Zagarese. 2020. Field evidence supports former experimental claims on the stimulatory effect of glyphosate on picocyanobacteria communities. *Science of The Total Environment* 701:134601. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134601>.
- Castro Berman, M., D. J. G. Marino, M. V. Quiroga, and H. Zagarese. 2018. Occurrence and levels of glyphosate and AMPA in shallow lakes from the Pampean and Patagonian regions of Argentina. *Chemosphere* 200:513-522. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.103>.
- De Figueiredo, D. R., M. J. Pereira, and A. Correia. 2010. Seasonal modulation of bacterioplankton community at a temperate eutrophic shallow lake. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26:1067-1077. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0272-3>.
- Diovisalvi, N., V. Y. Bohn, M. C. Piccolo, G. M. E Perillo, C. R. M. Baigún, and H. E. Zagarese. 2015. Shallow lakes from the Central Plains of Argentina: an overview and worldwide comparative analysis of their basic limnological features. *Hydrobiologia* 752:5-20. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-1946-x>.
- Dolan, J. R. 2005. Biogeography of aquatic microbes. *Aquatic Microbial Ecology* 41:39-48. <http://doi.org/10.3354/ame041039>.
- Dray, S., and A. B. Dufour. 2007. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* 22(4):1-20. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>.
- Ducklow, H. 2008. Microbial services: challenges for microbial ecologists in a changing world. *Aquat Microb Ecol* 53: 13-19. <https://doi.org/10.3354/ame01220>.
- Edgar, R. C., and H. Flyvbjerg. 2015. Error filtering, pair assembly and error correction for next-generation sequencing reads. *Bioinformatics* 31(21):3476-82. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv401>.
- Fenchel, T. 2008. The microbial loop-25 years later. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366:99-103. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.07.013>.
- Fermani, P., A. Torremorell, L. Lagomarsino, R. Escaray, F. Unrein, and G. Pérez. 2015. Microbial abundance patterns along a transparency gradient suggest a weak coupling between heterotrophic bacteria and flagellates in eutrophic shallow Pampean lakes. *Hydrobiologia* 752:103-123. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2019-x>.
- Fernández Zenoff, V., F. Siñeriz, and M. E. Farías. 2006. Diverse Responses to UVB Radiation and Repair Mechanisms of

- Bacteria Isolated from High-Altitude Aquatic Environments. *Applied Environmental Microbiology* 72(12):7857-7863. <https://doi.org/10.1128/AEM.01333-06>.
- Fisher, S. G., N. B. Grimm, E. Martí, R. M. Holmes, and J. B. Jones. 1998. Material spiraling in stream corridors: a telescoping ecosystem model. *Ecosystems* 1(1):19-34. <https://doi.org/10.1007/s100219900003>.
- Gabellone, N. A., L. C. Solari, and M. C. Claps. 2001. Planktonic and physicochemical dynamics of a markedly fluctuating backwater pond associated with a lowland river (Salado River, Buenos Aires, Argentina). *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 6:133-142. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1770.2001.00130.x>.
- Gabellone, N. A., R. Sarandón, and C. Claps. 2003. Caracterización y zonificación ecológica de la Cuenca del Río Salado. En O. C. Maiola, N. A. Gabellone and M. A. Hernández (eds.). *Inundaciones en la región pampeana*. 1ra edición. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.
- Gabellone, N., M. C. Claps, L. C. Solari, and N. C. Neschuk. 2005. Nutrients, conductivity and plankton in a landscape approach to a Pampean saline lowland river (Salado River, Argentina). *Biogeochemistry* 75:455-477. <https://doi.org/10.1007/s10533-005-3273-9>.
- Gabellone, N. A., L. Solari, M. Claps, and N. Neschuk. 2008. Chemical classification of the water in a lowland river basin (Salado River, Buenos Aires, Argentina) affected by hydraulic modifications. *Environmental Geology* 53:1353-1363. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-0745-3>.
- Gabellone, N. A., M. C. Claps, D. C. Ardohain, A. Dippolito, M. E. Bazurri, and L. C. Solari. 2014. Trophic and structural relationship between zoo- and phytoplankton in a saline lowland river (Argentina): a short-time-scale analysis. *Fundamental and Applied Limnology* 184(4):307-327. <https://doi.org/10.1127/1863-9135/2014/0643>.
- Goslee, S. C., and D. L. Urban. 2007. The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data. *Journal of Statistical Software* 22(7):1-19. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i07>.
- Grosman, F. 2008. *Especios en la llanura: Nuestras lagunas de la región pampeana*. Primera edición. Tandil. Univ. Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Hébert, M. P., V. Fugère, and A. González. 2018. The overlooked impact of rising glyphosate use on phosphorus loading in agricultural watersheds. *Frontiers in Ecology and the Environment* 17(1):48-56. <https://doi.org/10.1002/fee.1985>.
- Herlemann, D. P., M. Labrenz, K. Jürgens, S. Bertilsson, J. J. Waniek, and A. F. Andersson. 2011. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *The ISME journal* 5:1571-1579. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.41>.
- Huber, P., N. Diovialvi, M. Ferraro, S. Metz, L. Lagomarsino, M. E. Llamas, M. Royo-Llonch, J. Bustingorry, R. Escaray, S. G. Acinas, J. M. Gasol, and F. Unrein. 2017. Phenotypic plasticity in freshwater picocyanobacteria. *Environmental Microbiology* 19(3):1120-1133. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13638>.
- Izaguirre, I., M. L. Sánchez, M. R. Schiaffino, I. O'Farrell, P. Huber, N. Ferrer, J. Zunino, L. Lagomarsino, and Miguel Mancini. 2015. Which environmental factors trigger the dominance of phytoplankton species across a moisture gradient of shallow lakes. *Hydrobiologia* 752(1):47-64. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2951-z>.
- Izaguirre, I., and A. Vinocur. 1994. Algal assemblages from shallow lakes of the Salado River Basin (Argentina). *Hydrobiologia* 289:57-64. <https://doi.org/10.1007/BF00007408>.
- Kraemer, S. A., N. Barbosa da Costa, B. J. Shapiro, M. Fradette, Y. Huot, and D. A. Walsh. 2020. A large-scale assessment of lakes reveals a pervasive signal of land use on bacterial communities. *The ISME Journal* 14:3011-3023. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0733-0>.
- Lake, P. S. 2003. Ecological effects of perturbation by drought in flowing waters. *Freshwater Biology* 48(7):1161-1172. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2003.01086.x>.
- Legendre, P., and L. Legendre. 1998. *Numerical Ecology*. Second Edition. Elsevier, Amsterdam.
- Legendre, P., and E. Gallagher. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129:271-280. <https://doi.org/10.1007/s004420100716>.
- Llamas, M. 2011. *Diversidad y ecología de las comunidades microbiológicas de las lagunas pampeanas*. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Pp. 159.
- Llamas, M. E., P. A. del Giorgio, H. Zagarese, M. Ferraro, and I. Izaguirre. 2013. Alternative states drive the patterns in the bacterioplankton composition in shallow Pampean lakes (Argentina). *Environmental Microbiology Reports* 5(2):310-321. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12020>.
- Llamas, M. E., P. Huber, S. Metz, and F. Unrein. 2017. Interplay between stochastic and deterministic processes in the maintenance of alternative community states in Verrucomicrobia-dominated shallow lakes. *FEMS Microbiology Ecology* 93(7):1-10. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix077>.
- Logue, J. B., and E. Lindström. 2008. Biogeography of bacterioplankton in inland waters. *Freshwater Reviews* 1:99-114. <https://doi.org/10.1608/FRJ-1.1.9>.
- Malvárez, A. I., and R. F. Bó. 2004. *Documentos del Curso Taller: Bases ecológicas para la clasificación e inventario de humedales en Argentina*, Buenos Aires. Primera edición. Buenos Aires. URL: lac.wetlands.org/caso/inventario-de-humedales.
- Mantel, N., and R. S. Vandal. 1970. A technique of nonparametric multivariate analysis. *Biometrics* 26(3):547-558. <https://doi.org/10.2307/2529108>.
- Marker, A. F. H., E. A. Nusch, H. Rai, and B. Riemann. 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwater and standardization of methods: conclusions and recommendations. *Archiv für Hydrobiologie Behandlung Ergebnisse der Limnologie* 14:91-106.
- Martin, M. 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal* 17(1):

- 10-12. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>.
- Martiny, J. B. H., B. J. M. Bohannan, J. H. Brown, R. K. Colwell, J. A. Fuhrman, J. L. Green, M. C. Horner-Devine, M. Kane, J. Adams Krumins, C. R. Kuske, P. J. Morin, S. Naeem, L. Ovreås, A.-L. Reysenbach, V. H. Smith, and J. T. Staley. 2006. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4:102-112. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1341>.
- MEA (Millennium Ecosystem Assessment). 2005. Ecosystems and human well-being: Wetlands and water synthesis. World Resources Institute, Washington D.C.
- Morin, P. J., and J. McGrady-Steed. 2004. Biodiversity and ecosystem functioning in aquatic microbial systems: a new analysis of temporal variation and species richness predictability relations. *Oikos* 104:458-466. <https://doi.org/10.1111/J.0030-1299.2004.13256.X>.
- Muyllaert, K., K. Van der Gucht, N. Vloemans, L. De Meester, M. Gillis, and W. Vyverman. 2002. Relationship between bacterial community composition and bottom-up versus top-down variables in four eutrophic shallow lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 68(10):4740-4750. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.4740-4750.2002>.
- Newton, R. J., S. E. Jones, A. Eiler, K. D. McMahon, and S. Bertilsson. 2011. A guide to the natural history of freshwater lake bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 75(1):14-49. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00028-10>.
- O'Farrell, I., C. Motta, M. Forastier, W. Polla, S. Otaño, N. Meichtry, M. Devercelli, and R. Lombardo. 2019. Ecological meta-analysis of the bloom-forming planktonic Cyanobacteria in Argentina. *Harmful Algae* 83:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.01.004>.
- O'Farrell, I., M. L. Sánchez, M. R. Schiaffino, I. Izaguirre, P. Huber, L. Lagomarsino, and L. Yema. 2021. Human impacted shallow lakes in the Pampean plain are ideal hosts for cyanobacterial harmful algae. *Environmental Pollution* 288: 117747. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117747>.
- Oksanen, J., F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, P. R. Minchin, R. B. O'Hara, P. Solymos, M. Henry, H. Stevens, E. Szoecs, H. Wagner, M. Barbour, M. Bedward, B. Bolker, D. Borcard, G. Carvalho, M. Chirico, M. De Caceres, S. Durand, H. B. Antoniazzi Evangelista, R. FitzJohn, M. Friendly, B. Furneaux, G. Hannigan, M. O. Hill, L. Lahti, D. McGlenn, M.-H. Ouellette, E. Ribeiro Cunha, T. Smith, A. Stier, C. J. F. Ter Braak, and J. Weedon. 2017. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.0-2. URL: cran.r-project.org/package=vegan.
- Pasqualetti, C., F. Szokoli, L. Rindi, G. Petroni, and M. Schrällhammer. 2020. The Obligate Symbiont *Candidatus Megaira polyxenophila* Has Variable Effects on the Growth of Different Host Species. *Frontiers in Microbiology* 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01425>.
- Prosser, J. I., B. J. Bohannan, T. P. Curtis, R. J. Ellis, M. K. Firestone, R. P. Freckleton, J. L. Green, L. E. Green, K. Killham, J. J. Lennon, A. M. Osborn, M. Solan, C. J. van der Gast, and J. P. W. Young. 2007. The role of ecological theory in microbial ecology. *Nature Reviews Microbiology* 5(5):384-392. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1643>.
- Quast, C., E. Pruesse, P. Yilmaz, J. Gerken, T. Schweer, P. Yarza, J. Peplies, and F. O. Glöckner. 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research* 41:D590-D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.
- Quiroga, M. P. 2020. Diversidad de bacterias planctónicas en lagunas pampeanas utilizadas con fines recreativos. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina. Pp. 66.
- Quiros, R. 2000. La eutrofización de las aguas continentales en Argentina. I Reunión de la Red Temática sobre Eutrofización de Lagos y Embalses. Subprograma XVII. Cooperación Iberoamericana. Ciencia y tecnología para el desarrollo (CYTED). Mar del Plata, Argentina.
- Quiros, R. 2005. La ecología de las lagunas de las Pampas. *Investigación y Ciencia* 1-13. URL: tinyurl.com/n7dptf98r.
- Quiros, R., and E. Drago. 1999. The environmental state of Argentinean lakes: An overview. *Lakes and Reservoirs: Research and Management* 4:55-64. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1770.1999.00076.x>.
- Quiros, R., J. J. Rosso, A. M. Rennella, A. Sosnovsky, and M. B. Boveri. 2002a. Análisis del estado trófico de las lagunas pampeanas (Argentina). *Interciencia* 27(11):584-591. URL: tinyurl.com/bp6cb6vh.
- Quiros, R., A. M. Rennella, M. B. Boveri, J. J. Rosso, and A. Sosnovsky. 2002b. Factores que afectan la estructura y el funcionamiento de las lagunas pampeanas. *Ecología Austral* 12(2):175-185.
- Quiros, R., M. B. Boveri, C. A. Petracci, A. M. Renella, J. J. Rosso, A. Sosnovsky, and von H. T. Bernard. 2006. Los efectos de la agriculturización del humedal pampeano sobre la eutrofización de sus lagunas. Pp. 1-16 en J. G. Tundisi, T. Matsumura-Tundisi and C. Sidagis Galli (eds.). *Eutrofização na América do Sul: Causas, conseqüências e tecnologias de gerenciamento e controle*. Instituto Internacional de Ecologia, Instituto Internacional de Ecologia e Gerenciamento Ambiental, Academia Brasileira de Ciências, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, InterAcademy Panel on International Issues, InterAmerican Network of Academies of Sciences.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2018. URL: [R-project.org](https://www.R-project.org/).
- Rennella, A. M., and R. Quiros. 2006. The effects of hydrology on plankton biomass in shallow lakes of the Pampa Plain. *Hydrobiologia* 556:181-191. <https://doi.org/10.1007/s10750-005-0318-y>.
- Ringuelet, R. A., A. Salibián, E. Clavé, and S. Ilhero. 1967. Limnología química de las lagunas pampásicas (Provincia de Buenos Aires). *Physis* 27:201-221.
- Rosso, J. J. 2008. Relación entre la abundancia y estructura de la comunidad de peces y el régimen hidrológico, en lagunas de la alta cuenca del Río Salado. Tesis doctoral. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. Pp. 115

- Sánchez, M. L., L. Lagomarsino, L. Allende, and I. Izaguirre. 2014. Changes in the phytoplankton structure in a Pampean shallow lake in the transition from a clear to a turbid regime. *Hydrobiologia*, 752(1):65-76. <https://doi.org/10.1007/s10750-014-2010-6>.
- Sánchez, M. L., M. R. Schiaffino, M. Graziano, P. Huber, L. Lagomarsino, P. Minotti, H. Zagarese, and I. Izaguirre. 2021. Effect of land use on the phytoplankton community of Pampean shallow lakes of the Salado River basin (Buenos Aires Province, Argentina). *Aquatic Ecology* 55:417-435. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09835-8>.
- Sánchez, L. M., M. R. Schiaffino, H. Pizarro, and I. Izaguirre. 2015. Periphytic and planktonic bacterial community structure in turbid and clear shallow lakes of the Pampean Plain (Argentina): a CARD-FISH approach. *Latin American Journal of Aquatic Research* 43(4):662-674. <https://doi.org/10.3856/vol43-issue4-fulltext-5>.
- Savicky, P. 2014. Pspearman: Spearman's Rank Correlation Test. URL: CRAN.R-project.org/package=pspearman.
- Scheffer, M., S. H. Hosper, M. L. Meijer, B. Moss, and E. Jeppesen. 1993. Alternative equilibria in shallow lakes, *Trends in Ecology and Evolution* 8(8):275-279. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90254-M](https://doi.org/10.1016/0169-5347(93)90254-M).
- Schiaffino, M. R., N. Diovisalvi, D. M. Molina, P. Fermani, C. Li Puma, L. Lagomarsino, M. V. Quiroga, and G. L. Pérez. 2019. Microbial food-web components in two hypertrophic human-impacted Pampean shallow lakes: interactive effects of environmental, hydrological, and temporal drivers. *Hydrobiologia* 830:255-276. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3874-7>.
- Schiaffino, M. R., P. Huber, M. Sagua, C. A. Sabio, Y. García, and M. Reissig. 2020. Covariation patterns of phytoplankton and bacterioplankton in hypertrophic shallow lakes. *FEMS Microbiology Ecology* 96(11):fiaa161. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa161>.
- Seoane Rocha, C. 2018. Estructura y dinámica del bacterioplancton en lagunas ubicadas en la cuenca superior e inferior del río Salado. Tesis de grado. Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales. Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires. Pp. 67.
- Sierra, E. M., R. Hurtado, L. Spescha, I. Barnatan, and C. Messina. 1994. Corrimiento de las isoyetas semestrales medias decenales (1941-1990) en la región pampeana. *Revista Facultad de Agronomía* 15(2-3):137-143. URL: tinyurl.com/3asz3s5k.
- Simões, N. R., F. A. Lansac-Tôha, and C. Bonecker. 2013. Drought disturbances increase temporal variability of zooplankton community structure in floodplains. *International Review of Hydrobiology* 98:24-33. <https://doi.org/10.1002/iroh.201201473>.
- Steven, B., S. E. Dowd, K. H. Schulmeyer, and N. L. Ward. 2011. Phylum-targeted pyrosequencing reveals diverse planctomycete populations in a eutrophic lake. *Aquatic Microbial Ecology* 64:41-49. <https://doi.org/10.3354/ame01507>.
- Taranu, Z. E., and I. Gregory-Eaves. 2008. Quantifying relationships among phosphorus, agriculture, and lake depth at an interregional scale. *Écosystems* 11:715-725. <https://doi.org/10.1007/s10021-008-9153-0>.
- Tong Y., G. Lin, X. Ke, F. Liu, G. Zhu, G. Gao, and J. Shen. 2005. Comparison of microbial community between two shallow freshwater lakes in middle Yangtze basin, East China. *Chemosphere* 60(1):85-92. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.037>.
- Van der Gucht, K., K. Sabbe, L. De Meester, N. Vloemans, G. Zwart, M. Gillis, and W. Vyverman. 2001. Contrasting bacterioplankton community composition and seasonal dynamics in two neighbouring hypertrophic freshwater lakes. *Environmental Microbiology* 3(11):680-690. <http://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00242.x>.
- Viglizzo, E. F., F. Lértora, A. J. Pordomingo, J. N. Bernardos, Z. E. Roberto, H. Del Valle. 2001. Ecological lessons and applications from one century of low external-input farming in the pampas of Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83(1-2):65-81. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(00\)00155-9](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(00)00155-9).
- Wang, H., R. Zhu, X. Zhang, Y. Li, L. Ni, P. Xie, and H. Shen. 2019. Abiotic environmental factors override phytoplankton succession in shaping both free-living and attached bacterial communities in a highland lake. *AMB Express* 9:170. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0889-z>.
- Wei, C., S. Bao, X. Zhu, and X. Huang. 2008. Spatio-temporal variations of the bacterioplankton community composition in Chaohu Lake, China. *Progress in Natural Science* 18(9):1115-1122. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.04.005>.
- Whitman, W. B., D. C., Coleman, and W. J. Wiebe. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:6578-6583.
- Wu, X., W. Xi, W. Ye, and H. Yang. 2007. Bacterial community composition of a shallow hypertrophic freshwater lake in China, revealed by 16S rRNA gene sequences. *FEMS Microbiology Ecology* 61(1):85-96. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00326.x>.
- Yilmaz, P., L. W. Parfrey, P. Yarza, J. Gerken, E. Pruesse, C. Quast, T. Schweer, J. Peplies, W. Ludwig, and F. O. Glöckner. 2014. The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks. *Nucleic Acid Research*. 42:D643-D648. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>.
- Zaila, K. E., T. G. Doak, H. Ellerbrock, C. H. Tung, M. L. Martins, D. Kolbin, M.-C. Yao, D. M. Cassidy-Hanley, T. G. Clark, and W.-J. Chang. 2017. Diversity and Universality of Endosymbiotic Rickettsia in the Fish Parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Frontiers in Microbiology* 8:189. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00189>.
- Zhao, M., Y. T. Ma, S. Y. He, X. Mou, and L. Wu. 2020. Dynamics of bacterioplankton community structure in response to seasonal hydrological disturbances in Poyang Lake, the largest wetland in China. *FEMS Microbiol Ecol* 96(8): fiaa064. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa064>.
- Zhou, L., W. Chen, J. Sun, L. Liu, and X. Huang. 2020. Spatial Variation in Bacterioplankton Communities in the Pearl River, South China: Impacts of Land Use and Physicochemical Factors. *Microorganisms* 8(6):814. <https://doi.org/10.3390/microorganisms80608>.