

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

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

PALEOBIOINDICADORES LACUSTRES NEOTROPICALES

Editores

Liseth Pérez

Julieta Massafarro

Alexander Correa-Metrio

PALEOBIOINDICADORES LACUSTRES NEOTROPICALES

CODIGO ISBN



CODIGO ISBN



Paleobioindicadores lacustres neotropicales

Editado por

Liseth Pérez

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

Julieta Massafiero

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

Alexander Correa-Metrio

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

Asistente de edición

Karla Zurisadai Rubio Sandoval

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

ISBN, e-ISBN (en trámite)

Editorial (UNAM)

Tapa: Florencia Crocco

Indicadores vegetales

Capítulo 3: Polen

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

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

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

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

1. Introducción

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

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

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

2. Biología

Origen de los palinomorfos

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

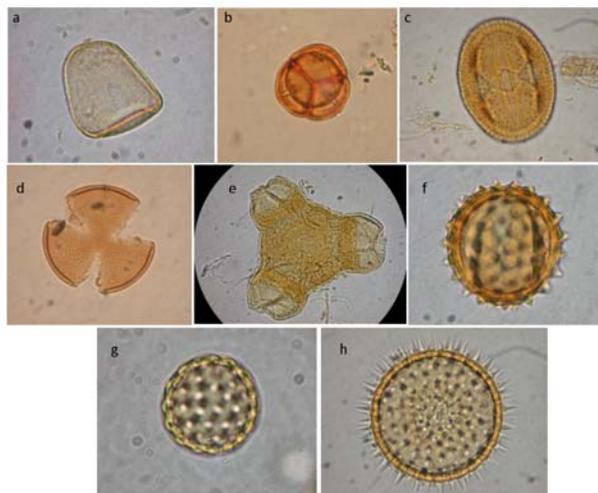


Figura 1. Representantes de algunos tipos morfológicos de granos de polen. a. inaperturado, *Cyperus*; b. tétrada, *Empetrum*; c. tricolporado microequinado, Asteraceae tipo Mutisiae; d. tricolpada, Cactaceae; e. triporado, Onagraceae; f. tricolporado equinado, Asteraceae tipo *Senecio*; g. periporado,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

Mecanismos de dispersión

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

Preservación

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

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

Morfología

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

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

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

3. Metodología

Técnicas paleoambientales

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

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

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

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

Tratamiento físico-químico:

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

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

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

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

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

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

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

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

México

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

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

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

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

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

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

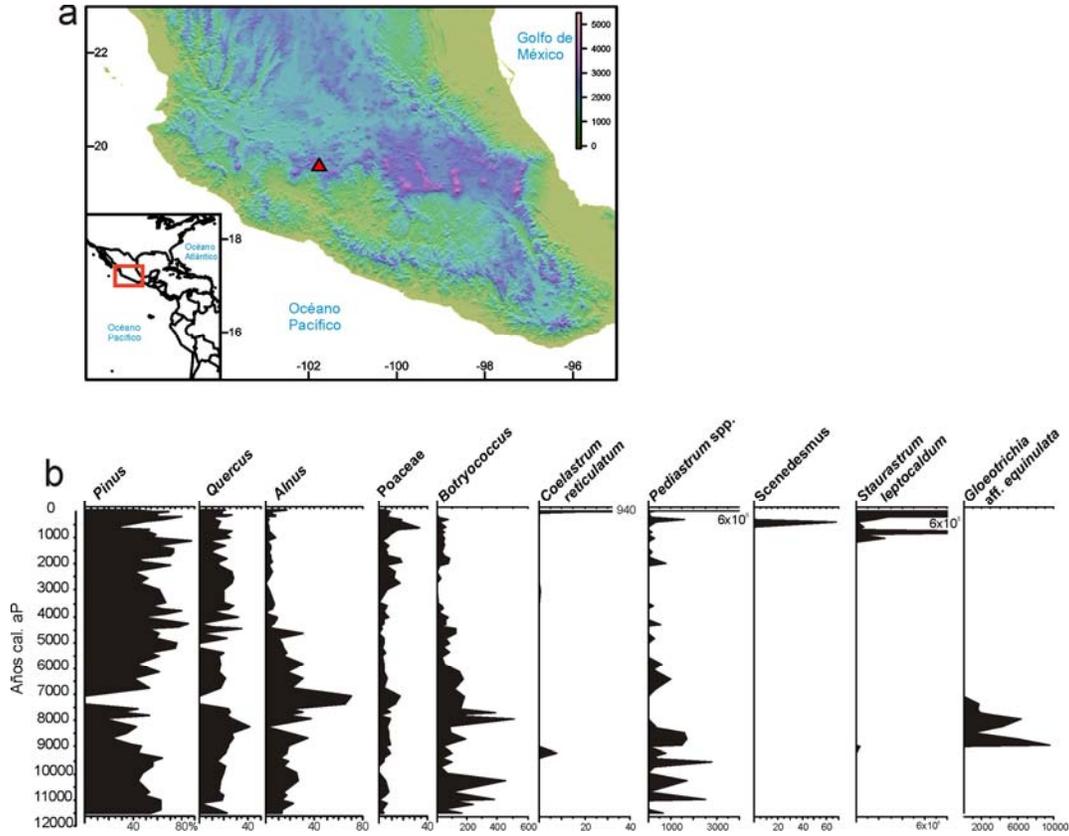


Figura 2. a. Mapa del centro de México señalando con un triángulo la localización del Lago de Zirahuén. **b.** Diagrama polínico resumido de los últimos 11.5 ka del lago de Zirahuén (Lozano-García et al., 2013). Los taxa polínicos (*Pinus*, *Quercus*, *Alnus* y *Poaceae*) se expresan en porcentajes y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

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

Centroamérica

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

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

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

Sudamérica

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

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

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

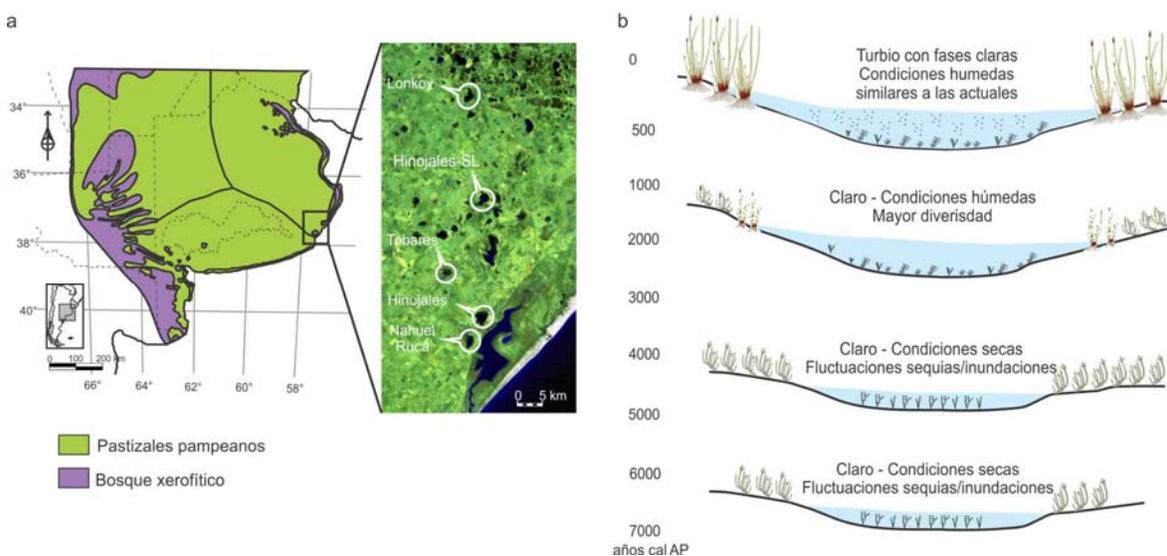


Figura 3. a. Ubicación de la llanura Pampeana y de los lagos someros (Lonkoy, Hinojales-SL, Tobares, Hinojales y Nahuel Rucá) en el sudeste. b. Esquema de la evolución paleoambiental y paleoclimática desde el Holoceno medio. Modificado de Stutz et al. 2014.

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

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

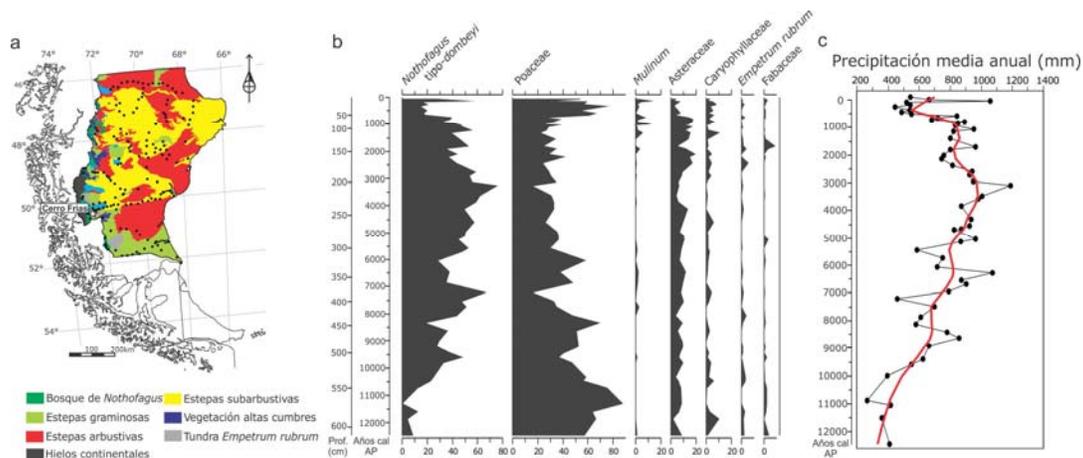


Figura 4. a. Ubicación de Patagonia Sur, de las muestras de polen de superficie y del sitio Cerro Frías. b. Diagrama con los principales tipos polínicos. c. Reconstrucción de la precipitación media anual, la línea roja es un *LOESS smoother* (span: 0.20; order: 1). Modificado de Tonello et al. 2009.

5. Perspectivas a futuro

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

6. Agradecimientos

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

7. Referencias bibliográficas

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

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

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

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

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

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