

SEGUIMIENTO A LARGO PLAZO DE COMUNIDADES MICROBIANAS EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA Y DE LA DISPERSIÓN REMOTA MEDIANTE AEROSOLES ATMOSFÉRICOS EN EL CONTEXTO DEL CAMBIO GLOBAL

EMILIO O. CASAMAYOR¹, JOAN CALIZ¹, LLUÍS CAMARERO¹,
RÜDIGER ORTIZ-ÁLVAREZ¹, XAVIER TRIADÓ-MARGARIT¹

RESUMEN

La generación de aerosoles atmosféricos es un fenómeno creciente a escala global que transporta y dispersa a miles de kilómetros partículas, nutrientes, contaminantes y microorganismos. Las investigaciones que desarrollamos en lagos de alta montaña del entorno de los Parques Nacionales de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, Ordesa y Sierra Nevada se centran en determinar cómo los microorganismos responden o se ven afectados por diferentes vectores del cambio global, especialmente el aumento de la carga de aerosoles como vehículo que incrementa la dispersión global y ubicuidad de los microorganismos. De manera paralela, venimos realizando una caracterización pionera de la riqueza microbiana natural (bacterias, arqueas, hongos y protistas) que contienen estos ambientes como un método de diagnóstico del estado de salud de los ecosistemas y del patrimonio genético que contienen. Estos estudios se integran dentro de la estrategia de seguimiento a largo plazo de la red española LTER (Long Term Ecological Research) y han sido financiados por el OAPN de manera ininterrumpida desde el año 2007. El proyecto DISPERSAL ha sido continuación de los dos proyectos anteriores AERBAC y AERBAC-2 y ha permitido afianzar el seguimiento de este fenómeno y analizar de manera pionera la serie ecológica más larga y detallada disponible actualmente, profundizando en el conocimiento de la identidad, composición, capacidad de dispersión, de resistencia y de colonización de las especies microbianas aerotransportadas, algunas de ellas potencialmente nocivas para la biota autóctona, que se depositan de manera continuada en zonas de alta protección. Nuestro interés busca el mantenimiento de Observatorios Microbianos como instrumentos para la detección temprana de la entrada y evaluación de los efectos provocados por los microorganismos inmigrantes y el seguimiento de dichos microorganismos a largo plazo en Observatorios integrados en redes tipo LTER que aseguren un estudio temporal continuado.

Palabras clave: *LTER, Bacterias, Hongos, Protistas, Arqueas, Comunidades microbianas, Ecosistemas de alta montaña, Aerosoles, Lagos.*

¹ Integrative Freshwater Ecology Group y Nodo LTER-Aigüestortes, Centre d'Estudis Avançats de Blanes, CEAB (CSIC), Accés Cala Sant Francesc, 14, 17300 Blanes, Girona.

LONG-TERM SURVEY OF ALPINE MICROBIAL COMMUNITIES AND GLOBAL AIRBORNE MICROBIAL DISPERSAL IN THE CONTEXT OF GLOBAL CHANGE

ABSTRACT

The generation of atmospheric aerosols is a global scale growing phenomenon that moves and disperses thousands of kilometers away particles, nutrients, contaminants, and microorganisms. The research carried out in high mountain lakes of the National Parks of Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, Ordesa, and the Sierra Nevada, focuses on how microorganisms respond or are affected by different global change vectors, mainly the increase in the load of aerosols as a way to increase global dispersal and ubiquity of microorganisms. In parallel, we have been carrying out a pioneering characterization of the natural aquatic microbial richness (bacteria, archaea, fungi and protists) of alpine lakes in protected and unprotected areas as a diagnostic method of the state of health of the ecosystems and their genetic heritage. These studies are integrated into the long-term ecological research strategy of the Spanish LTER network, that have been funded by the OAPN since 2007. The DISPERSAL project links to the two previous projects AERBAC and AERBAC-2 and has made it possible to consolidate and to analyze in a pioneering way the longest and most detailed airborne ecological series currently available, improving current knowledge on the identity, composition, dispersal capacity, resistance and colonization of airborne microbial species, which are deposited continuously in high protection areas, some of them potentially harmful to the native biota. Our interest seeks the maintenance of Microbial Observatories, as instruments for early detection of immigrant microorganisms and their potential ecosystem effects, integrated within LTER-type networks that substantiate continuous long-term temporal studies.

Keywords: *LTER, Bacteria, Fungi, Protists, Archaea, Microbial communities, High Mountain Ecosystems, Aerosols, Alpine lakes.*

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos se encuentran de manera permanente en la atmósfera y viajan suspendidos en las masas de aire que circulan por todo el planeta. De hecho, los microorganismos son la forma de vida aérea más abundante. Es bien conocido que el aire es un sistema de dispersión con efectos en la biogeografía de organismos terrestres y acuáticos, pero se desconoce si este mecanismo funciona de manera extensiva en el mundo microbiano. A pesar de que desconocemos la identidad de la mayoría de estos microorganismos aéreos, su presencia y viabilidad en la atmósfera es un fenómeno que ya fue demostrado a mediados del siglo XIX y los estudios epidemiológicos a nivel de bacterias esporuladas, hongos y polen son bien conocidos desde la mitad del siglo pasado. Entre los microorganismos aéreos identificados se encuentran habitantes típicos del suelo, pero también patógenos potenciales de plantas, de animales y de humanos y patógenos oportunistas, dentro de los géneros *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Duganella*, *Staphylococcus*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter* entre otros. Algunos de estos microorganismos poseen capacidad de generar esporas como mecanismo de resistencia para enfrentarse a la alta sequedad ambiental y elevadas dosis de radiación nociva que prevalecen en la atmósfera. Otros, sin embargo, no poseen mecanismos de resistencia conocidos y tradicionalmente se había considerado que la atmósfera tenía un efecto esterilizante sobre muchos de ellos. De ser cierto, este aspecto implicaría que la dispersión atmosférica no es un mecanismo ecológico universal para todos los microorganismos, sino que la dispersión a largas distancias funcionaría únicamente para grupos específicamente adaptados a las presiones selectivas de este ambiente. Sin embargo, recientemente se ha comprobado que microorganismos sin mecanismos de resistencia conocidos para las duras condiciones de la alta atmósfera, como por ejemplo *Acinetobacter*, pueden sobrevivir largos periodos en el aire y desplazarse en estado viable distancias que abarcan miles de kilómetros, ligados a la movilización de aerosoles sólidos.

Se estima que en condiciones normales se pueden encontrar del orden de miles a cientos de miles de microorganismos totales por m³ de aire, pero es-

tas abundancias aumentan drásticamente con la presencia de aerosoles atmosféricos, especialmente con los de origen terrestre. Los microorganismos presentes en la atmósfera pueden encontrarse en tres estados o situaciones diferentes: (1) inactivos o muertos y, por tanto, incapaces de desarrollarse de nuevo al emerger situaciones propicias, (2) latentes o activos metabólicamente, que no encuentran en la atmósfera condiciones ideales para reproducirse pero pueden reproducirse masivamente en otro tipo de ambiente, y (3) activos metabólicamente y que se reproducen activamente en la atmósfera. Dentro de la segunda categoría entrarían las formas de vida microbiana que utilizan los aerosoles como mecanismo de dispersión, mientras que los del último tipo probablemente participarían en algunas de las transformaciones y ciclados biogeoquímicos que acontecen en la atmósfera, principalmente de compuestos del azufre y del nitrógeno. Gracias al crecimiento exponencial típico de las bacterias, el hecho de permanecer en forma de células viables dentro del ecosistema les permite reaccionar de forma rápida frente a cambios ambientales que les sean favorables y aumentar de manera espectacular su número en pocas horas aunque se parta inicialmente de muy pocos individuos.

Junto a la existencia de sistemas muy eficientes de reparación de las lesiones del ADN producidas por las radiaciones ionizantes de la alta atmósfera, los microorganismos aéreos pueden mitigar su exposición a estas radiaciones utilizando las partículas de polvo, de polen o las microgotas de agua como escudos naturales. Algunas de estas partículas, junto a partículas de material arcilloso, pueden también ofrecer el mínimo hídrico requerido para mantener activas a las células durante su largo periplo. Bajo esta perspectiva, el transporte de microorganismos a largas distancias (miles de kilómetros) por vía aérea mediante aerosoles atmosféricos ha cobrado un renovado interés ligado a los mecanismos de dispersión y ubicuidad microbiana ya que supone la movilización anual por todo el planeta del orden de 10 trillones de microorganismos. Estas oleadas de microorganismos aéreos, algunos beneficiosos y otros nocivos, tienen efectos ecológicos todavía no bien entendidos y otras consecuencias mucho más agudas y aparentes para la salud del ecosistema y de las personas como son plagas, alergias y enfermedades

en fauna y flora. Por tanto, existe un vínculo directo entre la carga de aerosoles atmosféricos y la movilidad de ingentes cantidades de microorganismos. La carga de aerosoles atmosféricos tiene una relación directa, a su vez, con el clima y sus variaciones y con otros factores ligados al cambio global como, por ejemplo, los cambios en el uso de la tierra, la sobreexplotación de recursos hídricos o la desertización en zonas sensibles del planeta.

La alta montaña en general y, en particular, los lagos alpinos ubicados en el entorno de los Parques Nacionales de Aigüestortes-Estany de Sant Maurici y Sierra Nevada, son laboratorios naturales ideales para explorar los aspectos más ecológicos vinculados a la dispersión y colonización de microorganismos de origen remoto en zonas de alta protección. Estos lagos se encuentran relativamente poco alterados por la acción humana a escala local y son considerados relativamente libres de interferencias externas próximas. Además, se encuentran presentes en todas las latitudes del planeta permitiendo la extrapolación de estudios locales y regionales a una escala planetaria. En este contexto, el proyecto DISPERSAL ha cubierto cuatro objetivos principales (Figura 1):

(i) Catalogación intensiva y extensiva de la biodiversidad microbiana (bacterias, arqueas, protistas y hongos) presentes en ambientes acuáticos de la cordillera pirenaica (>300 lagos alpinos examinados) y su contextualización en función de las figuras de protección. Se ha elaborado el listado más detallado hasta la fecha de microorganismos presentes en ambientes acuáticos de alta montaña, tanto en zonas protegidas como en zonas sin protección.

(ii) Seguimiento temporal a largo plazo del microbioma aerotransportado que se deposita en los Parques Nacionales de Aigüestortes-Estany de Sant Maurici y Sierra Nevada y comparación con el microbioma troposférico. Se ha elaborado el listado más detallado hasta la fecha de microorganismos transportados por el aire a largas distancias y sus variaciones estacionales.

(iii) Comportamiento y dinámicas de patógenos y especies indicadoras microbianas aerotransportadas y contextualización en función de las figuras de protección. Se han identificado los microorganismos patógenos presentes en el aire y en las masas de agua de alta montaña, tanto en zonas protegidas como en zonas sin protección.

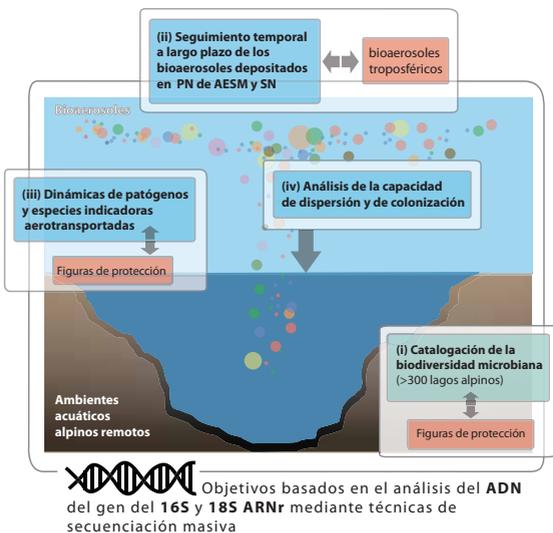


Figura 1. Esquema gráfico de los objetivos perseguidos en este trabajo, explorando las interacciones atmósfera-gosfera-hidrosfera-biosfera mediante el estudio del microbioma aerotransportado con técnicas avanzadas de secuenciación masiva de ADN y biocomputación.

Figure 1. Graphical abstract showing the main goals of the current study on the interactions atmosphere-gosphere-hydrosphere-biosphere through the study of the airborne microbiome, and massive DNA sequencing and biocomputational analyses.

(iv) Análisis de la capacidad de dispersión y de colonización de ambientes acuáticos alpinos remotos por parte de especies microbianas aerotransportadas. Se ha analizado la influencia de los microorganismos aerotransportados de origen remoto en la composición del plancton de las masas de agua de alta montaña.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección y análisis genético del plancton microbiano

Se ha trabajado sobre un muestreo de más de 300 lagos dispersos a lo largo de todos los Pirineos (mapa en Figura 2) realizado durante el verano del año 2011, desde los Valles occidentales hasta los Pirineos catalanes (CAMARERO & CATALAN, 2012). Este muestreo incluye (i) lagos en zonas con el mayor rango de protección, como el Parque Nacional de Aigüestortes, el de Ordesa y Monte Perdido y el de Les Pyrénées; (ii) Parques Naturales como Valls del Comapedrosa Valles Occidentales, Posets-Maladeta i Alt Pirineu; (iii) zonas con otros

niveles de protección como Pyrénées Ariégeoises, Pyrénées catalanes, Néouvielle, Nohèdes, Vall de Madriu-Perafita-Claror, Artiga de Lin, Capçalera de la Noguera Ribagorçana, Sant Joan de Toran, Marimanha, Filià y Tossa Plana de Lles-Puigpedrós, y (iv) zonas sin ningún tipo de protección. Los lagos incluyen un amplio rango de distintas variables químicas y limnológicas, con predominancia de lagos de gran altitud (~2300 m en promedio), condiciones oligotróficas (bajo contenido en carbono y fósforo) y un amplio rango de pH (4-10) (CAMARERO & CATALAN, 2012).

El plancton se tomó directamente en la salida del lago, muestreando aproximadamente 200 ml en unidades Sterivex de 0.22-micras, evitando alterar la zona litoral. El ADN se extrajo y purificó para posteriormente secuenciar los genes ribosómicos mediante procedimientos previamente descritos, concretamente la región V4 del gen del ARNr 16S para Arqueas (ORTIZ-ÁLVAREZ & CASAMAYOR, 2016) y Bacterias (ORTIZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2019), y la región V9 del gen del ARNr 18S para Eucariotas (ORTIZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018). Se utilizó NGS Illumina MiSeq 2x250 para la región



Figura 2. Mapa del distrito lacustre de Pirineos mostrando el conjunto de más de 300 lagos analizados en el presente estudio agrupados por las cuatro cuencas principales.

Figure 2. Map of the Pyrenean area showing the whole lakes dataset analyzed in this study (more than 300 lakes), grouped according to the 4 main watersheds.

V4 y MiSeq 2x150 para la región V9 en las instalaciones de secuenciación RTSF-MSU (Michigan State University, USA). Las secuencias obtenidas se encuentran disponibles en la base de datos pública de NCBI-GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject>) con el número de acceso BioProject PRJNA413654.

Las secuencias obtenidas fueron analizadas utilizando parámetros estándar en UPARSE y clasificadas utilizando la base de datos SILVA 119. La diversidad alfa (índice de Shannon H') se calculó normalizando a 10000 secuencias/muestra tanto para Bacterias como para Eucariotas, y a 30 secuencias/muestra para Arqueas. Las secuencias se agruparon en OTUs (Unidades Taxonómicas Operativas) con el 97% de identidad. La novedad genética de cada OTU fue calculada utilizando la base de datos del NCBI y BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Se cuantificaron en cada lago el número de especies microbianas de mayor grado de novedad, identificando aquellos lagos con un mayor número de organismos desconocidos que no disponían de variedades cercanas cultivadas en el laboratorio o previamente descritas de otros ambientes. Valores de identidad altos indicaron presencia de organismos ya descritos anteriormente, mientras que identidades bajas reflejaron alta novedad.

Recolección y análisis genético del aeroplancton microbiano

Se recolectaron bioaerosoles en dos puntos situados a elevada altitud y por encima de la capa de mezcla atmosférica en la zona del Lago Llebreta (CALIZ *et al.*, 2019) y en el Observatorio Astronómico de Sierra Nevada (TRIADÓ-MARGARIT *et al.*, 2018), siguiendo los protocolos anteriormente descritos (CASAMAYOR, 2011, CASAMAYOR *et al.*, 2015). El ADN se extrajo y purificó para posteriormente secuenciar los genes ribosómicos ARNr 16S de Arqueas y Bacterias y ARNr 18S de Eucariotas (CALIZ *et al.*, 2018). Se utilizó NGS Illumina MiSeq 2x250 para la región V4 y MiSeq 2x150 para la región V9 en las instalaciones de secuenciación RTSF-MSU (Michigan State University, USA). Se analizaron más de 30 millones de secuencias mediante

herramientas bioinformáticas implementadas en el paquete QIIME y USEARCH con los detalles metodológicos descritos en CALIZ *et al.* (2018) y TRIADÓ-MARGARIT *et al.* (2019). Las secuencias obtenidas se encuentran disponibles en NCBI-GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject>) con los números de acceso BioProjects PRJEB14358 y PRJNA509787.

Cálculo de retro trayectorias de masas de aire y análisis de la procedencia ambiental

La procedencia de los aerosoles se determinó a partir del cálculo de 828 retro trayectorias correspondientes a todos los días con precipitación (lluvia o nieve) durante el periodo comprendido entre los años 2007 y 2013 en la región Pirenaica. Las retro trayectorias se calcularon con 72 horas de antelación a partir del momento de máxima precipitación mediante el modelo HYSPLIT (*Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory*). Se fijaron como punto final para el cálculo de las trayectorias las coordenadas geográficas del lago Llebreta en el Parque Nacional de Aigüestortes y 3000 metros de altitud respecto al nivel del mar, que corresponde a la altura aproximada de la base de la formación nubosa que produce la precipitación. Todas las retro trayectorias se agruparon mediante el módulo de análisis proporcionado en el programa HYSPLIT4, de acuerdo a la similitud de sus coordenadas geográficas.

La procedencia ambiental de los microorganismos aerotransportados se asignó mediante la herramienta bioinformática SeqEnv con los ajustes descritos en CALIZ *et al.* (2018). Este análisis permite aproximar la procedencia de las bacterias y eucariotas basado en la similitud de las secuencias del gen ribosómico y la información ambiental asociada en la base de datos genómicos GenBank.

Identificación de microbios patógenos potenciales

La presencia de patógenos potenciales se estimó mediante análisis BLASTn de las secuencias de los genes ribosómicos obtenidas de muestras de aerosoles y plancton, frente a una base de datos de especies conocidas de microorganismos patóge-

nos (283 patógenos bacterianos y 192 de protistas y hongos) repartidas en distintas categorías según el tipo de huésped. Solo se incluyeron en el análisis aquellas secuencias con un grado de identidad >98%. Sin embargo, estos resultados han de interpretarse con cautela ya que las especies detectadas son consideradas patógenos potenciales y requieren análisis adicionales para confirmar que se trata exactamente de las variedades virulentas. En el caso de los hongos patógenos humanos y animales (<http://www.mycologylab.org>) y de especies de hongos fitopatógenos de importancia cuarentenaria en Europa (<http://www.q-bank.eu>) se consultaron bases de datos adicionales. La mayor abundancia y recurrencia de patógenos específicos para una determinada época del año se estimó mediante el cálculo del valor indicador (IndVal), parámetro mediante el que se valora la especificidad y fidelidad de un determinado taxón a un grupo de muestras (CALIZ *et al.*, 2018).

RESULTADOS

Catalogación de la biodiversidad microbiana planctónica

Para el conjunto de los >300 lagos analizados, las bacterias estuvieron dominadas por Bacteroidetes, Betaproteobacteria y Actinobacteria, sumando un 76% de la abundancia total bacteriana por lago, seguidas por Alphaproteobacteria, Verrucomicrobia y Gammaproteobacteria (Tabla 1). En el caso de los Eucariotas (grupos de algas y hongos principalmente) destacaron las algas crisófitas y dinoflagelados, que alcanzaron una abundancia del 75% en algunos lagos (Tabla 1). Protistas heterótrofos como Cercozoos (amebas con testa) y hongos quitridios, aunque no mostraron una abundancia tan elevada, destacaron ampliamente por su riqueza de especies, muchas de ellas novedosas (ORTIZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018). Dentro del

Dominio	Grupo taxonómico	Abundancia media (%)	Rango (%)
<u>Bacteria</u>	<i>Bacteroidetes</i>	33	4.7 - 54.2
	<i>Betaproteobacteria</i>	22	7.7 - 41.3
	<i>Actinobacteria</i>	21	0.2 - 47.2
	<i>Alphaproteobacteria</i>	10	1.9 - 65
	<i>Verrucomicrobia</i>	4	0 - 24.5
	<i>gammaproteobacteria</i>	4	0 - 24.5
	<i>Deltaproteobacteria</i>	1	0 - 12.3
	<i>Planctomycetes</i>	1	0 - 9.2
	<i>Cyanobacteria</i>	1	0 - 14
<u>Eucariota</u>	<i>Chrysophyceae</i>	36	4.3 - 75.8
	<i>Dinoflagellata</i>	19	0.1 - 76
	<i>Cercozoa</i>	4	0 - 32.4
	<i>Cryptomonadales</i>	4	0 - 49.4
	<i>Chlorophyceae</i>	3	0 - 46.7
	<i>Chytridiomycota</i>	2	0 - 19.8
<u>Archaea</u>	<i>Paecearchaeota</i>	<0.1	0 - 0.328
	<i>Woesearchaeota</i>	<0.1	0 - 0.292
	<i>Diapherotrites</i>	<0.01	0 - 0.006
	<i>Micrarchaeota</i>	<0.01	0 - 0.020

Tabla 1. Abundancia media y rango de los grupos taxonómicos más abundantes para los Dominios microbianos Bacteria, Eucariota y Archaea.

Table 1. Averaged abundance and range for the most abundant Bacteria, Eukarya and Archaea taxa.

Dominio Archaea, aunque su abundancia relativa fue mucho menor que la del resto de microorganismos, resultaron especialmente recurrentes los enigmáticos grupos Pacearchaeota y Woesearchaeota (ORTIZ-ÁLVAREZ & CASAMAYOR, 2016). La diversidad alfa para los grandes grupos Bacteria, Arquea, Hongos y Algas no presentó diferencias sustanciales entre parques nacionales y zonas sin protección (Figura 3).

La novedad de los microorganismos presentes en los distintos lagos se cuantificó de manera holística para bacterias, arqueas, hongos y algas. En general se observó un elevado número de especies novedosas por lago (promedio 104 OTUs, rango 4-291), entendido como la presencia de secuencias de genes ribosómicos con una identidad menor al 97% respecto a cualquier otra secuencia conocida y depositada en las bases de datos internacionales. El lago en el que se detectó un mayor número de especies novedosas fue Armèros (291 OTUs), situado en el Valle de Arán en una zona sin ninguna figura de protección especial. Los tres lagos con mayor grado de novedad microbiana ubicados dentro de un Parque Nacional fueron los Estany de Reguera (zona periférica del PNAT), Bergús (PN Aigüestortes) y Paradis (Parc Nationale des Pyrenees) (Figura 4).

Seguimiento temporal a largo plazo del microbioma aerotransportado

Las trayectorias de las masas de aire atmosférico analizadas se pueden agrupar en 7 grupos principales según la velocidad y dirección del viento (Figura 5, izquierda): Norte (C1), Oeste (C2 y C3), Sureste (C4), Sur (C5), recirculación regional (C6), y Noreste (C7). Además, la circulación de las masas de aire muestra un patrón estacional en relación al origen y procedencia de la precipitación (Figura 5, derecha). Las precipitaciones con procedencia atlántica predominan en otoño e invierno (40-69%), en verano domina el origen regional (41%) y se detectan frecuencias parecidas de ambas procedencias en primavera. Las precipitaciones procedentes del sur (que comprenden las africanas y las mediterráneas) predominan en verano (33%). En general, el origen europeo se detecta en menor frecuencia, siendo mayor en invierno y primavera.

Las comunidades de bacterias y eucariotas aerotransportadas durante los años 2007 y 2013 en la región Pirenaica muestran diferencias estacionales (p-valor < 0.001 ANOSIM; R=0.24 y R=0.29, respectivamente). A su vez, las comunidades de verano e invierno se parecen más a sus homólogas inte-

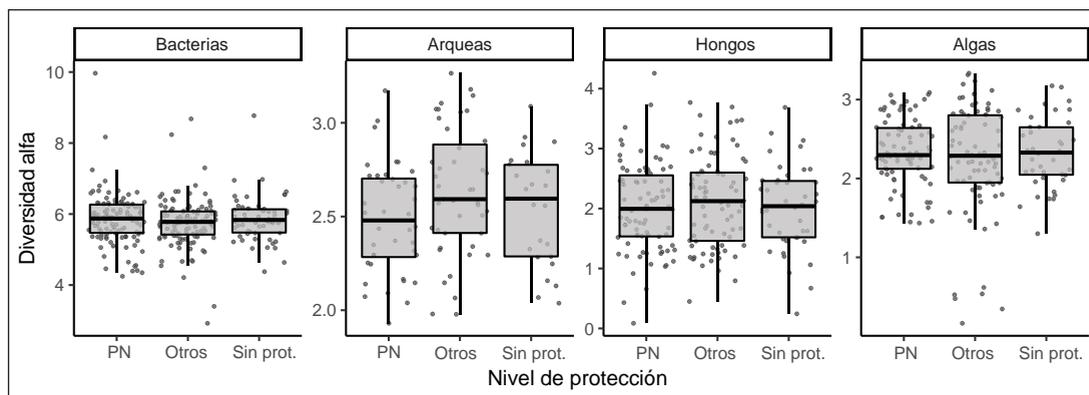


Figura 3. Diversidad alfa (índice de Shannon, H') de Bacteria, Arquea, Hongos y Algas en lagos con distinto grado de protección: Parques Nacionales (Ordesa y Aigüestortes i Estany de Sant Maurici), otras protecciones y zonas sin protección.

Figure 3. Shannon diversity for Bacteria, Archaea, Fungi and Algae in lakes within protected and unprotected areas: National Parks (Ordesa, and Aigüestortes i Estany de Sant Maurici), other protected areas, and unprotected areas.

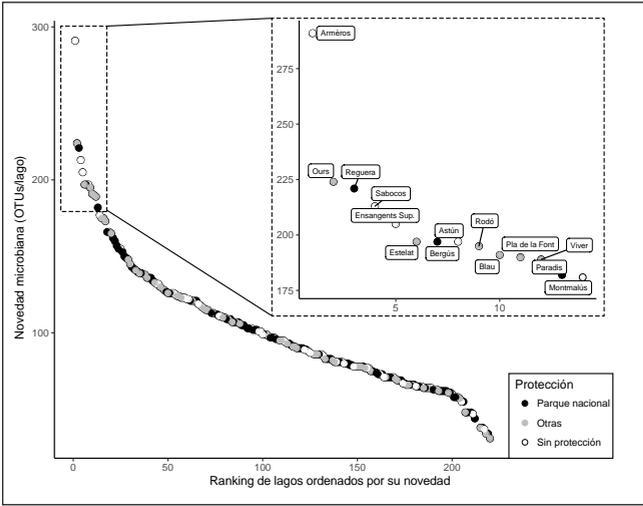
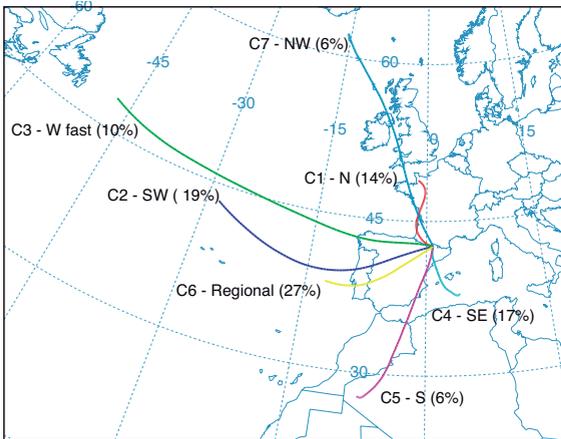


Figura 4. Ordenación de los lagos estudiados acorde a la cantidad de organismos novedosos presentes (identidad <97% en la secuencia del gen ribosómico respecto a especies cultivadas en el laboratorio o secuencias ambientales previamente conocidas). Se destacan los 14 lagos con un mayor nivel de novedad. OTUs: Unidades Taxonómicas Operacionales.

Figure 4. Sorted lakes according to the presence of novel microbes (i.e., those with identity of the 16S rRNA gene sequence <97% against both cultured species or environmental sequences previously reported). The 14 lakes with the highest number of novel species are highlighted. OTUs: Operational Taxonomic Units.



	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Clasificación trayectorias (%)				
N	17	6	7	12
NW	13	11	27	42
W	17	9	13	27
SW	0	14	18	19
S	17	0	0	0
SE	7	19	8	0
Regional	29	41	27	0
Procedencia (%)				
Atlántica (NW + W)	30	20	40	69
Europea (N)	17	6	7	12
Africana (SW + S)	17	14	18	19
Regional - Local	29	41	27	0
Mediterránea (SE)	7	19	8	0

Figura 5. Centroides y frecuencia de retrotrayectorias de las masas de aire asociadas a cada evento de precipitación durante el periodo 2007-2013 (izquierda). Frecuencia de retrotrayectorias asociadas a cada grupo según la estación y frecuencia asociada a cada procedencia (derecha).

Figure 5. Cluster centroids and frequency of back-trajectories of the air masses related to each precipitation event during the 2007-2013 surveyed period (left). Frequency of back-trajectories associated to each cluster by season, and frequency of clusters associated to each provenance (right).

rauales que con las comunidades de las otras estaciones temporalmente más próximas (CALIZ *et al.*, 2018). En cuanto a su composición, las comunidades de bacterias están compuestas principalmente por Alphaproteobacteria (58%), Betaproteobacteria (18%), Bacteroidetes (8%), Gammaproteobacteria (7%), Actinobacteria (3.5%) y Acidobacteria (2%). Algunos grupos muestran una recurrencia

estacional marcada con predominio de su abundancia en verano, como las Betaproteobacteria (Figura 6A), o en invierno, como las Acidobacteria (Figura 6B). Por otro lado, los hongos dominan las comunidades de eucariotas aerotransportados, con una abundancia promedio del 75%, compuestos principalmente por Basidiomycota y Ascomycota (32% y 26%, respectivamente). Ambos grupos se detectan

con abundancias claramente superiores en invierno (Figura 6C). Por el contrario, los hongos Chytridiomycota prácticamente no se detectan en invierno pero son muy abundantes en primavera (30%) (Figura 6D). Dentro de los protistas, Alveolata y Rhizaria se encuentran en proporciones más altas en verano (28.4% y 7.8%, respectivamente).

Los microorganismos aerotransportados proceden principalmente de ambientes terrestres como suelos, sedimentos y bosques, así como de aerosoles con origen marino o de agua dulce (Figura 7). Además, ciertas procedencias muestran también frecuencias diferentes según la estación de recolección de los aerosoles, de acuerdo con la composición de sus

comunidades. Generalmente en verano predominan los orígenes vinculados a aguas continentales, tierras de cultivo o ambientes urbanos, mientras que en invierno la mayoría son marinos y bosques. Las comunidades de microorganismos aerotransportados y su procedencia con marcada estacionalidad, muestran una relación clara con la procedencia y frecuencia de las masas de aire descritas en el periodo estudiado (CALIZ *et al.*, 2018).

Los aerosoles recolectados en el Parque Nacional de Sierra Nevada se han utilizado para comparar el tipo de comunidades de microorganismos depositados por gravedad (depósito seco) o lavados de la atmósfera por la lluvia o la nieve (depósito húmedo). Este

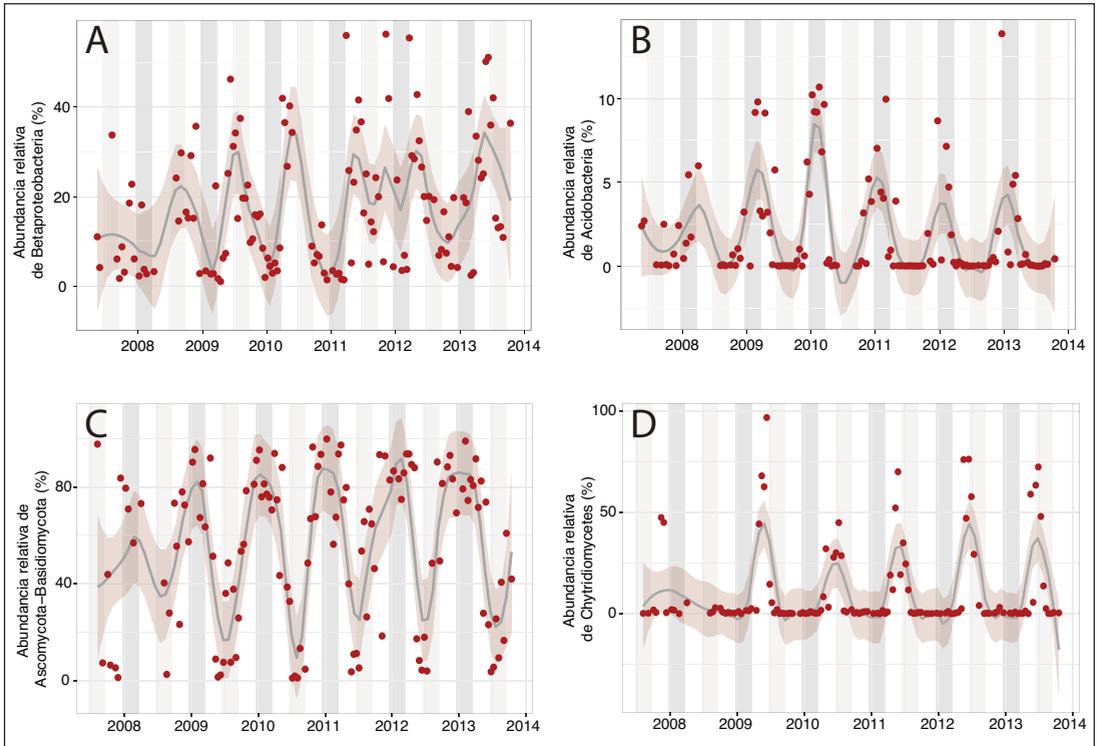


Figura 6. Dinámica interanual (periodo 2007-2013) en los cambios estacionales de la abundancia relativa (%) de cuatro grupos de microorganismos aerotransportados: Betaproteobacteria (A), Acidobacteria (B), Fungi (Ascomycota y Basidiomycota) (C) y Chytridiomycetes (D). Las barras verticales en gris oscuro corresponden a invierno y en gris claro a verano.

Figure 6. Interannual changes (range 2007-2013) in the relative abundances (%) of four major groups from the airborne microbiome: Betaproteobacteria (A), Acidobacteria (B), Fungi (Ascomycota and Basidiomycota) (C) and Chytridiomycetes (D). Dark grey bars show the different winter periods and light grey bars the summers.

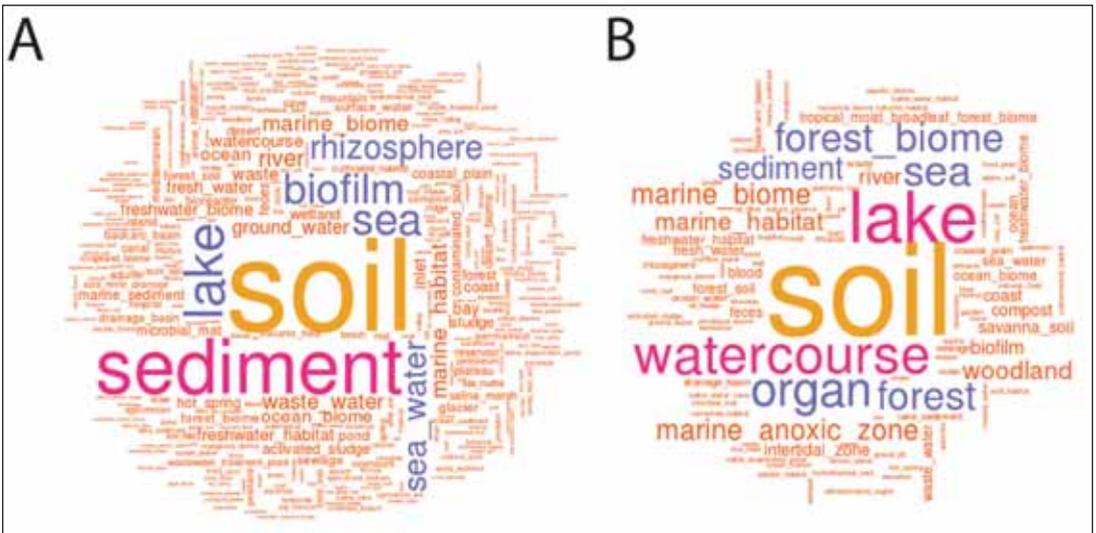


Figura 7. Frecuencia de términos ambientales (indicadores de la fuente de origen) de bacterias (A) y eucariotas (B) aerotransportados.

Figure 7. Frequency of environmental descriptive terms related to the source of airborne bacteria (A) and eukarya (B)

análisis muestra un elevado solapamiento en cuanto a la composición y estructura de las comunidades de bacterias de los aerosoles de depósito húmedo y seco (TRIADÓ-MARGARIT *et al.*, 2019). Además, la composición bacteriana de estos aerosoles también es muy parecida a la descrita en la zona de Pirineos. Por otro lado, a partir de un análisis comparativo con aerosoles procedentes de diferentes estudios, se pone de manifiesto que las comunidades bacterianas de aerosoles recolectados en estaciones de muestreo ubicadas a elevada altitud (alta montaña), por encima del límite de la capa de mezcla atmosférica (*boundary layer*), tienen mayor similitud con los recolectados directamente de la troposfera libre mediante muestro directo con aeronaves (Figura 8). Por el contrario, los aerosoles recolectados en sitios poco elevados (por debajo de la *boundary layer*) albergan comunidades alejadas del microbioma troposférico (TRIADÓ-MARGARIT *et al.*, 2019).

Presencia y dinámicas de microorganismos potencialmente patógenos

La presencia de microorganismos potencialmente patógenos (incluyendo patógenos oportunistas) se evaluó en relación a los diferentes estatus de protección de las

masas de agua de Pirineos y no se observaron diferencias apreciables entre ellos (Figura 9). La proporción de potenciales patógenos fue en general baja, con valores de abundancia relativa cercanos al 1% en el caso de bacterias y alrededor del 0.1% para protistas y hongos.

En el caso de patógenos potenciales aerotransportados presentes en las muestras de depósito húmedo, éstos se agruparon a partir de su huésped potencial diferenciando entre patógenos obligados de humanos, animales y plantas (Figura 10). Los análisis muestran que los patógenos de plantas fueron el tipo preponderante en el conjunto de datos de eucariotas, en este caso asociados principalmente a la detección de hongos. En el caso del conjunto de datos de bacterias, los patógenos de plantas tuvieron también una contribución destacable. La proporción de patógenos de animales fue, por lo general, baja (< 1%) en ambos subconjuntos de datos. La elevada proporción de eucariotas patógenos de humanos en comparación a los bacterianos se relaciona con la presencia de microorganismos alergénicos (como por ejemplo *Cladosporium cladosporioides*), con elevada representación en algunas muestras.

Los análisis de valor indicador (IndVal) mostraron que existía comportamiento estacional predecible

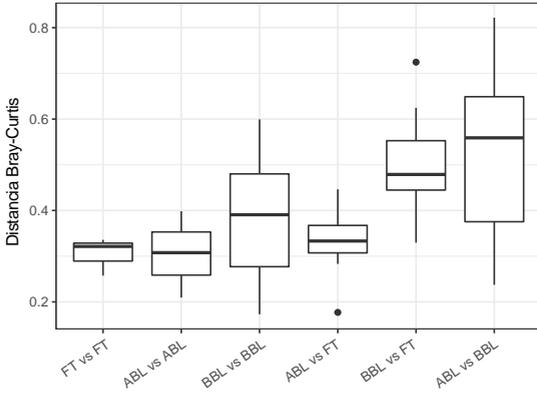


Figura 8. Representación de la variabilidad, expresada como distancias Bray-Curtis, dentro de y entre las comunidades de bacterias de aerosoles recolectados en la troposfera libre mediante aeronaves (FT), en sitios elevados de montaña por encima del límite de la capa de mezcla atmosférica (ABL) y lugares cerca de la superficie terrestre por debajo del límite de la capa de mezcla atmosférica (BBL).

Figure 8. Bray-Curtis distances between bacterial communities of aerosols collected in the free troposphere by airplanes (FT), high-elevation sites in mountains above the boundary layer (ABL) and low-elevation sites in ground surface below the boundary layer (BBL).

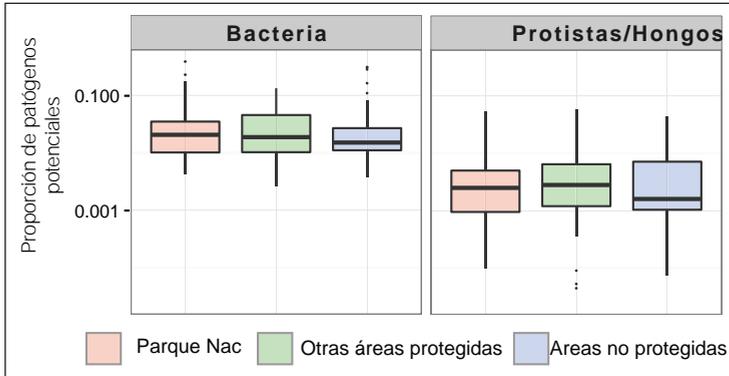


Figura 9. Abundancia relativa de bacterias, protistas y hongos potencialmente patógenos, detectadas en el conjunto de lagos de Pirineos, analizados de acuerdo a la figura de protección.

Figure 9. Relative abundance of potentially pathogenic Bacteria, Protists, and Fungi detected in water samples from Pyrenean lakes in protected and unprotected areas.

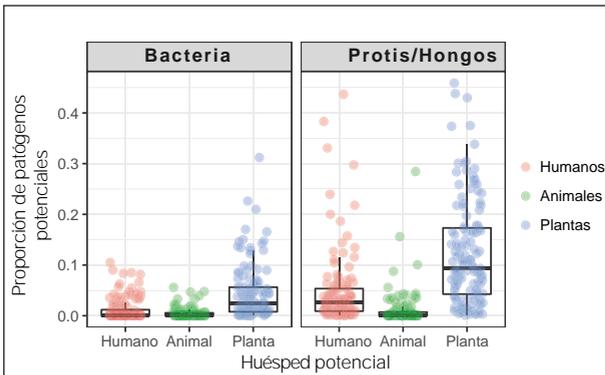


Figura 10. Abundancia relativa de bacterias, protistas y hongos aerotransportados potencialmente patógenos, detectadas en muestras de depósito atmosférico húmedo recogidas en el Parque Nacional de Aigüestortes y ordenadas según el huésped potencial.

Figure 10. Relative abundance of potentially airborne pathogenic Bacteria, Protists, and Fungi detected in atmospheric wet deposition collected in Aigüestortes National Park sorted by potential host.

para algunos de los microorganismos patógenos. En el caso de las bacterias potencialmente patógenas de plantas *Acidovorax avenae* y *Agrobacterium tumefaciens*, se encontraron preferentemente y en mayor abundancia en aerosoles de verano (frecuencia 0.93 y abundancia relativa >1%; frecuencia <0.52 y abundancia >0.1%, respectivamente). Los grupos característicos para los aerosoles de invierno fueron los patógenos de humanos *Corynebacterium*, *Stenotrophomonas* y *Yersinia* y patógenos de peces del género *Renibacterium*, aunque con valores de abundancia relativa promedio <1% en todos los casos. Los hongos potencialmente patógenos fueron los únicos eucariotas que presentaron valores significativos en el análisis de valor indicador.

Por ejemplo, el género *Exophiala* (levaduras negras), apareció como característico del período invernal y alberga potenciales patógenos de peces y anfibios. En primavera se detectaron con mayor preferencia y abundancia poblaciones próximas a *Cryptococcus neoformans*, especie relacionada con patologías respiratorias en humanos.

Análisis de la capacidad de dispersión y de colonización de ambientes acuáticos alpinos remotos

Al cruzar las dos bases de datos genéticos, es decir, (i) la obtenida a partir de la prospección del plan-

ton de >300 lagos pirenaicos y (ii) la de microorganismos aerotransportados recogidos durante 7 años en el corazón del Parque Nacional de Aigüestortes, se observa una gran presencia en las masas de agua de poblaciones que utilizan la atmósfera como medio de dispersión (entre un 15% de la riqueza de eucariotas acuáticos y un 30% de la riqueza de bacterias acuáticas). Además, las bacterias aerotransportadas comprenden cerca del 53% de la abundancia promedio del plancton bacteriano, e incluso pueden llegar al 76% en algunos lagos (Figura 11, izquierda). En contraposición, los eucariotas con capacidad de movilización aérea representan una porción menor cercana al 30%, aunque de manera puntual pueden llegar al 87% en algunos casos excepcionales (Figura 11, derecha).

No se observa relación entre presencia en el plancton de microorganismos aerotransportados y la figura de protección legal del entorno (p-valor > 0.05, ANOVA; Figura 11). Sin embargo, las características limnológicas sí que desempeñan un papel determinante. Los lagos genuinamente alpinos que se encuentran por encima de la línea de árboles (~2200 metros), albergan una mayor abundancia de microorganismos eucariotas aerotransportados que los lagos montanos (p-valor < 0.001, t-test; Figura 12, panel derecha). Curiosamente, este efecto no se detecta en el caso de las bacterias (p-valor > 0.05, t-test; Figura 12, panel izquierda).

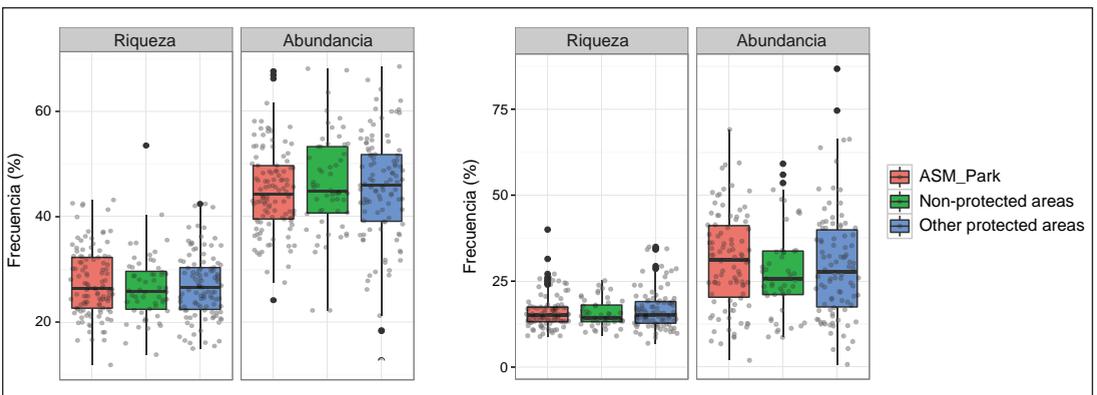


Figura 11. Riqueza y abundancia de bacterias (izquierda) y eucariotas (derecha) presentes simultáneamente en bioaerosoles y en el plancton de los lagos pirenaicos, separados según las figuras de protección del entorno.

Figure 11. Richness and abundance of bacteria (left) and eukaryotes (right) present both in bioaerosols and in the plankton of Pyrenean lakes, in protected and unprotected areas.

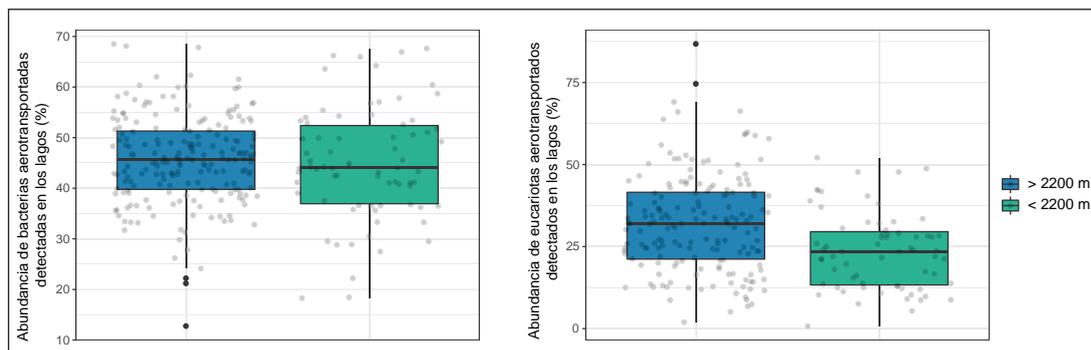


Figura 12. Abundancia de bacterias (izquierda) y eucariotas (derecha) aerotransportados detectados en el plancton de lagos alpinos (>2200 m altitud) y montanos (<2200 m).

Figure 12. Abundance of airborne bacteria (left) and eukaryotes (right) present in the plankton of alpine (>2200 m altitude) and montane (<2200 m) lakes.

DISCUSIÓN

El esfuerzo combinado entre muestreo extensivo de más de 300 lagos de alta montaña y la aplicación de técnicas de secuenciación masiva de ADN de última generación, han permitido obtener de manera pionera los perfiles microbianos de comunidades de arqueas, bacterias y eucariotas habitantes de lagos alpinos y montanos del distrito lacustre de Pirineos. El diseño experimental ha permitido la comparación entre lagos de zonas protegidas, como el Parque Nacional de Aigüestortes, zonas con otros niveles de protección, y zonas sin ningún tipo de protección. En conjunto, el distrito lacustre de Pirineos emerge como un enclave de alta novedad genética microbiana y como un laboratorio natural de gran valor para ensayar la aplicación de los conceptos desarrollados en biología de la conservación de animales y plantas, al mundo de los microorganismos (CASAMAYOR, 2017, WANG *et al.*, 2017). El alto número de especies microbianas novedosas que se han detectado, están asociadas a linajes que sólo muy recientemente se están empezando a comprender gracias a las técnicas de secuenciación masiva y reconstrucción virtual de sus rutas metabólicas y genomas mediante técnicas de bioinformática y biocomputación (análisis *in silico*). Este es el caso de Pacearchaeota y Woesearchaeota, linajes de arqueas del grupo DPANN que se han encontrado en numerosos ambientes acuáticos y terrestres y que, en los lagos de Pirineos, tienen una alta ocurrencia posi-

blemente ligada a formas de vida con estrategias de endosimbiosis y parasitismo (ORTIZ-ÁLVAREZ & CASAMAYOR, 2016). Un caso parecido es el de los Chytridiomycota, hongos quitridios que manifiestan una diversidad inesperada en estos ambientes (ORTIZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018) y un rol ecosistémico clave obviado hasta fechas muy recientes (Frenken *et al.*, 2017). Dentro de las bacterias, resulta también llamativa la ‘candidate phyla radiation’ Parcubacteria (OD-1), caracterizada por genomas de pequeño tamaño y rutas metabólicas reducidas que sugieren un estilo de vida simbiótico-parasítico (HUG *et al.*, 2016). La riqueza en Pirineos de Parcubacteria sobresale por encima de todos los demás grupos aunque con abundancias relativas menores (ORTIZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2019). Además, al comparar el microbioma de las aguas cristalinas del Pirineo con otras masas de agua oligotróficas más extensas, como el Mar Mediterráneo, se constata que la diversidad genética de hongos y de ciertos tipos de algas unicelulares es mucho mayor en los lagos pirenaicos de alta montaña que en las aguas oligotróficas marinas (ORTIZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2018). En conjunto, estos datos indican una gran riqueza de organismos unicelulares saprófitos y parásitos desconocidos hasta el momento con una gran diversidad genética que posiblemente se mantiene gracias al alto grado de interacción entre ellos por depredación y parasitismo. Estos resultados permiten una mejor comprensión del funcionamiento de las redes tróficas en sistemas acuáticos que se encar-

gan de realizar tareas de gran trascendencia como la depuración natural de las aguas y refuerzan la idea de que parásitos y saprófitos deben incorporarse a un nuevo paradigma de la dinámica del plancton.

Desde la perspectiva microbiana, las figuras de protección no tienen efecto en las abundancias de los distintos linajes ni en su diversidad o novedad, salvo en el caso del grupo dominante, las algas crisófitas, que podría estar relacionado con el estado trófico de los lagos (CATALÁN *et al.*, 2009). Tampoco se detecta efecto en la distribución y abundancia de patógenos potenciales presentes en el plancton y por tanto no hay repercusión en la calidad microbiológica de los lagos, pero sí puede estar condicionado por otros factores que merecen un estudio más detallado (TRIADÓ-MARGARIT *et al.*, en preparación).

La presencia de microorganismos en los aerosoles atmosféricos es conocida desde el siglo XIX y recientemente se ha convertido en un tema de estudio de gran repercusión e interés, especialmente por los vínculos con el cambio global. En el presente estudio hemos analizado los microbios aerotransportados intercontinentalmente y capturados a lo largo de siete años en el corazón del Parque Nacional de Aigüestortes en Pirineos, un nodo perteneciente a la red de investigación ecológica a largo plazo LTER que utiliza los ambientes de alta montaña como sistemas centinela de los cambios globales del planeta. El origen de las masas de aire se determinó mediante un seguimiento de las retro-trayectorias y el análisis de la composición química del agua de lluvia y nieve. Se pudo determinar también los diferentes orígenes (desiertos, océanos, bosques, áreas agrícolas y urbanas, etc.) de los microorganismos que se inyectan continuamente en la alta atmósfera en forma de aerosoles, permanecen suspendidos durante días y son transportados por el viento a largas distancias antes de ser depositados remotamente por el lavado de la lluvia o la nieve.

Este fenómeno natural está exacerbado por los efectos del cambio climático y la desertización de zonas sensibles del planeta (MOULIN & CHIAPELLO 2006). En los Pirineos, el depósito principal de aerosoles se produce por lavado de la atmósfera con la precipitación de lluvia o nieve (depósito húmedo).

El depósito de aerosoles por sedimentación pasiva o empujadas por corrientes de aire atmosféricas descendentes (depósito seco) es escasa y muy variable en esta región. Por el contrario, este depósito seco es frecuente y cuantioso durante los meses de verano en Sierra Nevada. Nuestras investigaciones en el Parque Nacional de Aigüestortes y en el de Sierra Nevada suponen el estudio más completo con el mayor conjunto de datos aéreos explorados hasta la fecha. Nuestra investigación pone de manifiesto que los aerosoles depositados de manera pasiva en zonas de alta montaña sometidas a escasa influencia cercana de vegetación, campos de cultivo o suelos desarrollados, capturan muy bien la composición de los bioaerosoles que se desplazan largas distancias y que se encuentran en la troposfera libre. Por lo tanto, el seguimiento de estos bioaerosoles en estaciones de muestreo ubicadas en ambientes alpinos emerge como un método efectivo, económico y realista para la prospección del microbioma de la troposfera libre y la dispersión intercontinental de microorganismos (TRIADÓ-MARGARIT *et al.*, 2019).

El seguimiento continuado y a largo plazo de este microbioma global aerotransportado ha puesto de manifiesto una serie de patrones repetitivos interanualmente. Por un lado, tanto bacterias como eucariotas microscópicos mostraron una mayor diversidad genética en invierno respecto a verano, siendo las comunidades de aeroplancton de invierno y las de verano las que mostraron mayores diferencias entre sí (CALIZ *et al.*, 2018). Por otro lado, de manera sorprendente las comunidades microbianas del aire mostraron dinámicas interanuales recurrentes no aleatorias acopladas a regímenes de circulación de aire, con una composición compleja de diferentes fuentes originales, pero estructurada. Un cambio en la circulación atmosférica como consecuencia del cambio climático tendrá sin duda efectos en estas autopistas intercontinentales de circulación de microbios. Además, de manera recurrente un 1% de los géneros bacterianos y un 7% de los eucariotas microbianos fueron detectados en más del 90% de muestras, y la mayoría de secuencias del aire fueron muy similares a las descritas previamente en otras partes del planeta, lo que pone de manifiesto que el transporte aéreo es un mecanismo potencial de dispersión microbiana a nivel global. Finalmente,

se han detectado taxones microbianos específicos para épocas de año concretas (especies indicadoras, CALIZ *et al.*, 2018) y se observaron taxones ubicuos que podrían ser habitantes comunes de la atmósfera. El tener establecida de manera pionera la línea base de la presencia de patógenos en el aire a lo largo del seguimiento temporal, da a este estudio un alto valor como firma forense para trabajos futuros (TRIADÓ-MARGARIT *et al.*, en preparación). En conjunto, nuestro seguimiento LTER en el Parque Nacional de Aigüestortes y en el de Sierra Nevada, ha puesto de manifiesto el valor de los aerosoles a escala global como un mecanismo potencialmente exitoso para la dispersión de microorganismos por todo el planeta. Así, el seguimiento del microbioma aerotransportado debería incorporarse como un componente más en la monitorización periódica para evaluar la calidad del aire.

Los grandes desiertos del planeta y zonas próximas actúan como puntos calientes de emisión natural de partículas a escala planetaria, especialmente la zona del Sahara-Sahel, en África y la del Gobi-Takla Makan, en Asia. Ello es debido a la coincidencia de la zona de convergencia intertropical y las corrientes convectivas de aire ascendente que conlleva, con zonas del planeta cuya cobertura vegetal se ha ido degradando y son más susceptibles a la erosión eólica. Aquí se generan inmensas masas de polvo en suspensión (de miles de millones de toneladas), algunas de ellas equivalentes al tamaño de toda la Península Ibérica, que se desplazan miles de kilómetros de distancia saltándose las barreras oceánicas, impulsadas por el régimen general de vientos (KELLOGG & GRIFFIN 2006, PROSPE-RO *et al.*, 2002). Hacia el oeste llegan, en el caso del polvo africano, a la zona amazónica y al Caribe y hacia el este, en el caso del polvo asiático, afecta a zonas densamente pobladas del planeta. Sorprendentemente, el polvo del desierto del Gobi puede detectarse en Europa después de haber completado casi una vuelta completa alrededor de la Tierra. Las características climatológicas regionales en la zona Atlántico-Mediterránea que determinan el posicionamiento de anticiclones y borrascas, así como determinadas fluctuaciones en la diferencia de presión atmosférica ligadas a la oscilación del Atlántico Norte (índice NAO), favorecen la entrada periódica de parte de estas masas hacia la zona continental

europea. Las entradas de polvo sahariano hacia Europa tienen un marcado comportamiento estacional con máximos en primavera-verano y también es posible observar una acusada variabilidad interanual con situaciones, como la vivida en España el año 2007, que conllevan una elevadísima frecuencia de días afectados por episodios de entrada de polvo del Sahara a lo largo del año y periodos de varias semanas con presencia constante de aerosoles particulados en suspensión.

El escaso o nulo control en las prácticas agrícolas y sanitarias en ciertas regiones de África que actúan como focos emisores de polvo a escala global y la falta de depuración en los vertidos realizados a ríos y lagos hacen que se movilicen de los sedimentos desecados diferentes tipos de contaminantes orgánicos, metales pesados, microorganismos potencialmente patógenos y otras formas de vida que mayoritariamente utilizan o han utilizado el fenómeno para colonizar nuevos ambientes del planeta. Cambios sostenidos en la frecuencia e intensidad del fenómeno y en la dirección que toman las ingentes masas de polvo pueden provocar alteraciones y cambios muy importantes en los ecosistemas del planeta (GRIFFIN *et al.*, 2002). En la Península Ibérica, los efectos de estas intrusiones están relacionados, entre otros, con episodios de mala visibilidad, lluvias de barro, problemas en las vías respiratorias que incluso se han vinculado con agravamiento de los casos de asma, neumonía y otras afecciones respiratorias y con el aumento de la mortalidad en pacientes con estas afecciones en zonas urbanas. Pero también hay un efecto ecológico que se vincula con la fertilización de bosques y ambientes acuáticos, la colonización exitosa de lagos alpinos y la capacidad de supervivencia y de dispersión a largas distancias de microorganismos no esporulados que han atraído el interés de diferentes investigadores en los últimos años. Curiosamente, la abundancia de microorganismos en el plancton de los lagos alpinos centinela está relacionada con factores físicos y químicos. Los lagos que se encuentran a mayor altitud están más expuestos e influenciados por las entradas de aerosoles atmosféricos en comparación con los lagos montanos. Hemos observado que la abundancia relativa de bacterias y eucariotas aerotransportados en los lagos decrece a mayor cantidad de carbono orgánico disuelto (DOC) (p-valor

< 0.05 , con coeficientes de correlación de Spearman > -0.21), por lo que los lagos más oligotróficos (o con menor contenido de carbono) albergan un mayor componente microbiano movilizado a través del aire y serían los candidatos idóneos a «ecosistemas centinela» de este proceso global.

CONCLUSIONES

Esta investigación ha puesto de manifiesto una gran riqueza genética y ecológica albergada en el plancton de ambientes acuáticos de alta montaña con peculiaridades notables a las que se debe dar un mayor valor y relevancia. Las figuras de protección no tienen efecto en las abundancias de los distintos linajes ni en su diversidad o novedad. Tampoco se detecta efecto en la distribución y abundancia de posibles patógenos que, aunque en general mostraron unas abundancias bajas, cubren un amplio espectro de huéspedes potenciales de plantas y animales, incluidos los humanos. Nuestro estudio ayuda a una mejor comprensión de las interconexiones atmósfera-geosfera-hidrosfera-biosfera y a contextualizar mejor las zonas protegidas en sus entornos regionales y globales, destacando la necesidad de disponer de una red interconectada de muestreo global para el seguimiento del microbioma aerotransportado. Estas interconexiones y efectos remotos deben ser considerados como un elemento más en la gestión y en la planificación de las zonas protegidas. El seguimiento continuado y a largo plazo de este microbioma global aerotransportado en zonas protegidas de alta montaña y dentro de estructuras LTER que aseguren su continuidad, tiene un alto valor diag-

nóstico que trasciende el nivel local, regional y nacional. Nuestra investigación apunta a que zonas del planeta especialmente sensibles a la degradación y que quizá no son consideradas relevantes en las agendas de protección por su falta de interés faunístico, florístico o paisajístico, como la zona del Sahel susceptible de generar grandes cantidades de polvo atmosférico, desempeñan un papel clave en la ecología global del planeta y tienen un efecto remoto en ecosistemas de alto interés y máximo grado de protección. Favorecer políticas ambientales adecuadas en zonas semiáridas sensibles del planeta y realizar el seguimiento de los efectos globales de estas políticas mediante estructuras LTER estratégicamente ubicadas, son piezas claves para fortalecer una visión global y pragmática de la gestión del sistema Tierra.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se ha llevado a cabo con el apoyo del Organismo Autónomo Parques Nacionales y la financiación del proyecto DISPERSAL 829/2013 y NITROPIR CGL2010-19373 y gracias a las instalaciones del Centre de Recerca d'Alta Muntanya-CRAM de la Universitat de Barcelona, el apoyo LTER (Long Term Ecological Research)-Aigüestortes, la colaboración de las autoridades y guardería del Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici y el apoyo logístico y de campo del personal del LOOP en la recogida periódica de muestras. ROA fue financiado con una beca predoctoral FPI de la Secretaría de Estado de I+D (MINECO) y por el proyecto BRIDGES CGL2015-69043-P.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALIZ, J.; TRIADÓ-MARGARIT, X.; CAMARERO, L.; CASAMAYOR, E.O. 2018. A long-term survey unveils strong seasonal patterns in the airborne microbiome coupled to general and regional atmospheric circulations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115: 12229-12234
- CAMARERO, L.; CATALAN, J. 2012. Atmospheric phosphorus deposition may cause lakes to revert from phosphorus limitation back to nitrogen limitation. *Nature Communications* 3, 1118.
- CASAMAYOR, E.O. 2017. Towards a microbial conservation perspective in High Mountain Lakes. En Catalan J., Ninot J., Aniz M. (eds) *High Mountain Conservation in a Changing World*. pp 157-180. *Advances in Global Change Research book series vol 62*. Springer, Cham.

- CASAMAYOR, E.O.; CALIZ, J.; TRIADÓ-MARGARIT, X. 2015. Control climático de la colonización bacteriana remota mediante aerosoles atmosféricos. *En* Mengual J y Asensio B (eds.) «Proyectos de Investigación en Parques Nacionales: 2010-2013», Serie Investigación en la Red. pp: 239-255. Organismo Autónomo Parques Nacionales (ed.), Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente ISBN 978-84-8014-870-2.
- CASAMAYOR, E.O. 2011. Diversidad bacteriana en lagos de alta montaña: Biogeografía y mecanismos de dispersión por aerosoles atmosféricos en el contexto del cambio global. *En* Ramirez, L.; Asensio, B. (eds.) «Proyectos de Investigación en Parques Nacionales: 2007-2010», Serie Investigación en la Red. pp: 77-90. Organismo Autónomo Parques Nacionales-Ministerio de Medio Ambiente ISBN 978-84-8014-805-4.
- CATALAN, J.; BARBIERI, M.G.; BARTUMEUS, F., BITUŠÍK, P. *et al.*, 2009. Ecological thresholds in European alpine lakes. *Freshwater Biology* 54: 2494-2517.
- FRENKEN, T.; ALACID, E.; BERGER, S.A.; BOURNE, E.C. *et al.*, 2017. Integrating chytrid fungal parasites into plankton ecology: research gaps and needs. *Environmental Microbiology* 19: 3802-3822.
- GRIFFIN, D.W.; KELLOGG, C.A.; GARRISON, V.H.; SHINN, E.A. 2002. The global transport of dust. An intercontinental river of dust, microorganisms and toxic chemicals flows through the Earth's atmosphere. *American Scientist* 90: 228-235.
- HUG, L.A.; BAKER, B.J.; ANANTHARAMAN, K.; BROWN, C.T. *et al.*, 2016. A new view of the tree of life. *Nature Microbiology* 1: 16048.
- KELLOGG, C.A.; GRIFFIN, D.W. 2006. Aerobiology and the global transport of desert dust. *Trends Ecology & Evolution* 21: 638-644.
- MOULIN, C.; CHIAPELLO, I. 2006. Impact of human-induced desertification on the intensification of Sahel dust emission and export over the last decades. *Geophysical Research Letters* 33: L18808.
- ORTIZ-ÁLVAREZ, R.; CASAMAYOR, E.O. 2016. High occurrence of Pacearchaeota and Woesearchaeota (superphylum DPANN) in surface waters of oligotrophic high-altitude lakes. *Environmental Microbiology Reports* 8: 210-217.
- ORTIZ-ÁLVAREZ, R.; CALIZ, J.; CAMARERO, L.; CASAMAYOR, E.O. 2019. Regional community assembly drivers and microbial environmental sources shaping bacterioplankton in an alpine lacustrine district (Pyrenees, Spain). *Environmental Microbiology* EMI-2018-1932.
- ORTIZ-ÁLVAREZ, R.; TRIADÓ-MARGARIT, X.; CAMARERO, L.; CASAMAYOR, E.O.; CATALAN, J. 2018. High planktonic diversity in mountain lakes contains similar contributions of autotrophic, heterotrophic and parasitic eukaryotic lifeforms. *Scientific Reports* 8: 4457.
- PROSPERO, J.M.; GINOUX, P.; TORRES, O.; NICHOLSON, S.; GILL, T. 2002. Environmental characterization of global sources of atmospheric soil dust identified with the NIMBUS 7 Total Ozone Mapping Spectrometer (TOMS) absorbing aerosol product. *Review of Geophysics* 40: 1002.
- TRIADÓ-MARGARIT, X.; CALIZ, J.; RECHE, I.; CASAMAYOR, E.O. 2019. High similarity in bacterial bioaerosols compositions between the free troposphere and atmospheric depositions collected at high-elevation mountains. *Atmospheric Environment* 203: 79-86.
- WANG, J.; MEIER, S.; SOININEN, J.; CASAMAYOR, E.O.; PAN, F.; YANG, X.; ZHANG, Y.; WU, Q.; ZHOU, J.; AN, Z.; SHEN, J.I. 2017. Regional and global elevational patterns of microbial species richness and evenness. *Ecography* 40: 393-402.