

Tesis Doctoral

Principales factores que influyen en la retención de nutrientes en arroyos pampeanos: factores bióticos y abióticos

García, Victoria Julieta

2016-03-28

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

García, Victoria Julieta. (2016-03-28). Principales factores que influyen en la retención de nutrientes en arroyos pampeanos: factores bióticos y abióticos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

García, Victoria Julieta. "Principales factores que influyen en la retención de nutrientes en arroyos pampeanos: factores bióticos y abióticos". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2016-03-28.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Principales factores que influyen en la retención de nutrientes en
arroyos pampeanos: factores bióticos y abióticos**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos
Aires en el área Ciencias Biológicas.

Victoria Julieta García

Directora de tesis: Dra. Claudia Silvina Feijoó

Consejera de estudios: Dra. Irina Izaguirre

Lugar de trabajo: Programa de Biogeoquímica de Ecosistemas Dulceacuícolas (BED),
Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES) UNLu-CONICET y
Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Avenida
Constitución, (6700) Luján, Buenos Aires, Argentina.

Buenos Aires, 2016

Fecha de defensa: 28 de marzo de 2016

Principales factores que influyen en la retención de nutrientes en arroyos pampeanos: factores bióticos y abióticos

Resumen

Asociado al incremento en el uso de fertilizantes y plaguicidas, los arroyos de la región pampeana están sufriendo las consecuencias del proceso de intensificación de la agricultura sin que se conozca, en detalle, su capacidad natural para procesar los nutrientes que pueden ingresar en exceso.

Los objetivos de la presente tesis fueron: estimar la retención de fosfato y amonio en dos arroyos pampeanos; analizar la influencia de la producción primaria, la biomasa de las comunidades autotróficas, el caudal y el área relativa de la zona de retención transitoria sobre la retención de nutrientes; y evaluar la importancia relativa de los procesos de captación autotrófica y heterotrófica del epipelon y la captación abiótica en los sedimentos sobre la retención de nutrientes.

El estudio se llevó a cabo mediante dos aproximaciones: adiciones estacionales de nutrientes en dos arroyos a lo largo de un ciclo anual y experimentos de laboratorio en arroyos artificiales. Los resultados de campo indican que tanto la retención de fosfato como la de amonio son elevadas en ambos arroyos y que, a pesar de los altos niveles basales de nutrientes que poseen, no se observa saturación en la retención. El análisis de los factores que influyen en las métricas de retención sugiere que la captación de fosfato se basaría principalmente en la demanda heterotrófica mientras que la captación de amonio se acentúa bajo condiciones más autotróficas.

Los experimentos de laboratorio señalan que la actividad autotrófica y heterotrófica por parte del epipelon representa un efecto significativo en la captación de fosfato y de amonio. Por otro lado, la captación abiótica de fosfato en los sedimentos es otro mecanismo de retención que opera al mismo tiempo que la captación biótica; pero es un proceso, en su mayor parte, reversible. Por su parte, la captación abiótica de amonio en el sedimento resultó ser un proceso de menor importancia.

Dada su capacidad para disminuir las exportaciones de nutrientes generadas por los ingresos terrestres, los resultados obtenidos en la presente tesis ponen de manifiesto la

importancia de los arroyos de cabecera de la región pampeana en los procesos de autodepuración, tanto del fosfato como del amonio y la función clave de este servicio ecosistémico para el mantenimiento de una buena calidad ecológica de los ambientes lóticos.

Palabras clave: retención de nutrientes, fosfato, amonio, metabolismo, arroyos pampeanos, sedimentos.

Main factors influencing nutrient retention on pampean streams: biotic and abiotic factors

Abstract

Due to the increase in the use of fertilizers and pesticides, pampean streams are undergoing the consequences of agriculture intensification. However, their natural capacity to process nutrients that may enter in excess is not well known in detail yet.

The main objectives of this thesis were: to estimate phosphate and ammonium uptake in two pampean streams; to analyze the influence of primary production, the biomass of autotrophic communities, the flow and the size of transient storage zone on nutrient retention; and; to evaluate the importance of autotrophic and heterotrophic epipelon uptake and abiotic sediment uptake on nutrient retention.

The study was carried out through two different approaches: seasonal nutrient additions in two streams over an annual cycle and laboratory experiments in artificial streams. Field results indicate that phosphate and ammonium uptake were high in both streams and did not saturate in spite of the elevated background nutrient levels. The analysis of factors influencing uptake metrics suggests that phosphate uptake would mainly rely on heterotrophic demand while ammonium uptake could enhance under more autotrophic conditions.

Laboratory experiments indicate that autotrophic and heterotrophic epipellic activity represents a significant effect on phosphate and ammonium uptake. On the other hand, phosphate abiotic uptake on sediments is another retention mechanism that operates together with biotic uptake. However, the mayor part of this process is reversible. Meanwhile, the influence of ammonium abiotic uptake on sediments was not a significant process.

Owing their capacity to reduce nutrient export of terrestrial inputs, the results of this thesis highlight the importance of headwater pampean streams and their self-purification capacity in processing phosphate and ammonium as well as the key role of this ecosystem service for the maintenance of a good ecological quality of lotic environments.

Key words: nutrient retention, phosphate, ammonium, metabolism, pampean streams, sediments.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecerle a mi directora, la Dra. Claudia Silvina Feijoó, por su guía, su orientación y su continua ayuda durante todo el transcurso de mi doctorado, sin las cuales no hubiera podido desarrollar este trabajo de tesis.

También quiero agradecerle al Dr. Adonis Giorgi por su asistencia teórica y metodológica a lo largo de todo el desarrollo de mi tesis doctoral, por acompañarme y aconsejarme en el primer muestreo de campo y por su continua y siempre buena predisposición a ayudar.

Al Dr. Francesc Sabater quiero agradecerle su colaboración en el diseño del plan de esta tesis, el haberme recibido en su laboratorio para la realización de una pasantía en el Departamento de Ecología de la Universidad de Barcelona y por enseñarme a utilizar diversas técnicas y herramientas de análisis que permitieron enriquecer mi formación científica y volcarla en este trabajo de investigación.

A la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (Acciones Integradas para el Fortalecimiento Científico e Institucional) quiero agradecerle por su colaboración a través del Programa de Cooperación Universitaria e Investigación Científica (AECID) que cubrió los gastos de mi estadía en la Universidad de Barcelona y parte de los gastos de los muestreos llevados a cabo en este trabajo.

A la Dra. Patricia Gantes, gracias por haber sido mi codirectora de beca, por haberme acompañado a todos mis muestreos y por la ayuda en el laboratorio.

A mi consejera de estudios, la Dra. Irina Izaguirre quiero agradecerle la orientación recibida durante mi doctorado.

A Graciela y Mabel, de la secretaría del EGE, gracias por la asistencia con todos los trámites burocráticos, especialmente en la última etapa, que fueron muchos y parecía que no llegaban a término. Su asistencia fue fundamental, por eso, muchas gracias!!!

Quiero agradecerles también a todos y cada uno de los que me asistieron en alguno o en todos los muestreos de campo realizados durante este trabajo: Claudia, Patricia, Adonis, Leo, Nico, Loreta, Ceci, mil gracias, sin ustedes no habría podido hacer ni un tercio de todo el trabajo!!!

También quiero agradecerles particularmente a Nico y a Leo por su asistencia y orientación durante mis primeros meses de trabajo que fueron clave para hacerme sentir cómoda y segura del trabajo a realizar.

A Connie, Lau Rigacchi, Lu Rocha, Caro II, Gaby, Ro, Richard, Nadia y Marina quiero agradecerles el haberme hecho sentir cómoda y contenida desde el primer día de trabajo. Cada uno de ustedes me ayudó a su manera y con sus aportes y podría dedicarles muchos párrafos más a para agradecerles, pero creo que lo más importante por lo que puedo agradecerles a todos es que porque me brindaron su amistad y todo lo que eso implica. A todos, gracias!!!

A Caro Vilches quiero agradecerle particularmente por su ayuda en el diseño, la puesta a punto y la realización de los experimentos de sedimento y, en general, quiero agradecerte por todo lo demás, por el apoyo emocional, por estar siempre preocupada por cómo venía con la tesis, por la buena onda, la buena predisposición a ayudar, la orientación, y por tanta dedicación. MUCHAS GRACIAS CARO!!

A Ceci y a Lau, quiero decirles especialmente gracias chicas!!!!!! Ustedes fueron un gran sostén en este último tiempo de mi doctorado. Gracias por la ayuda, la buena onda, la preocupación, el apoyo, las charlas de contención y por lo más valioso que me llevo de ustedes, su amistad!!! Por todo, GRACIAS!

Al laboratorio de ecología, en general, quiero agradecerles el haberme brindado un espacio de trabajo experimental y de mesada durante los primeros dos años de mi doctorado y un espacio de trabajo intelectual durante toda mi tesis. A todos, quiero agradecerles los almuerzos compartidos, la buena onda y todos los buenos momentos. Leonardo, Carlos, Lili, Ma. Andrea, Aníbal, Mariu, Cesar, Andrés, Moni, Karina, Vivina, gracias, porque todos pusieron su granito de arena para hacerme sentir muy bien durante todo mi doctorado.

A todo el grupo PEP quiero agradecerles por la colaboración con todos los elementos de muestreo que me brindaron y que compartimos sin tirarnos de los pelos y sin los cuales no habría podido llevar a cabo este trabajo. A Queto, especialmente gracias por ayudarme a armar el luxímetro, a manejar el HACH y probablemente muchas otras cosas más que no recuerdo y por la buena onda de siempre! A Anita, muchas gracias también!

A la Dra. Cristina Acosta, por ayudarme con las determinaciones de granulometría, gracias.

Al grupo de Ger Solar, y en especial a María José Denegri, por la buena onda y la buena predisposición para facilitarme los datos de radiación solar.

A Santiago Melendez por la dedicación y la buena predisposición para ayudarnos a reparar el muestreador sin el cual no hubiera podido leer las muestras de nitratos, mil gracias!!

A mis amigas de la vida: July, Sabri, Anita, Gany, Fer, Noe, Mile y Naty, quiero decirles muy especialmente: gracias chicas!!!! Por todo el apoyo que me brindaron en estos años, por la contención, por estar en el día a día y a la distancia también, a lo largo de toda esta etapa tan especial y por seguir estando siempre. A todas y cada una gracias!!!!

Y a Hernán, por su ayuda, su paciencia, su sostén, su insistencia, sus consejos, su dedicación, su amor y hasta por su distancia que me impulsaron a llevar a término esta tesis. Por todo y por cada uno de tus aportes, gracias, y por lo más importante de todo, por ser parte de mi vida, gracias amor!!!!

La realización de esta tesis fue posible gracias a las becas internas de postgrado Tipo I (3 años) y Tipo II del Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la República Argentina (CONICET), al PICT-2011-0163 otorgado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y al equipamiento y recursos económicos aportados por la Universidad Nacional de Luján.

Dedicatoria

A mi familia.

A mis padres Margarita y Américo por estar siempre presentes, dispuestos a darme una mano en lo que sea, aunque no sepan cómo, porque siempre están ahí y porque gracias a ustedes, que fomentaron que a pesar de todo hiciera siempre lo que me gusta, es que soy bióloga.

A mi hermano Sebastián por su continuo apoyo y por su interés en intentar entender qué es lo que hago.

Contenido

Capítulo1- Introducción General	1
Retención de nutrientes en los ecosistemas fluviales.....	2
Factores que influyen en la retención de nutrientes.....	3
Ciclo y retención de fósforo y nitrógeno en arroyos.....	6
El fósforo.....	6
El nitrógeno.....	9
Métodos de medición de la retención de nutrientes.....	11
Modelos que describen la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en arroyos.....	14
Construcción de las hipótesis de trabajo.....	17
Objetivo general.....	18
Objetivos específicos.....	18
Hipótesis de trabajo.....	19
PARTE I: experimentos de campo.....	19
PARTE II: ensayos en arroyos artificiales.....	20
Organización de la tesis.....	20
Capítulo 2- Ambiente y sitios de estudio	22
Ecorregión pampa.....	24
Pampa Ondulada.....	25
Ubicación.....	25
Clima.....	25
Geomorfología y edafología.....	26
Flora y fauna.....	27
Potencial natural de producción y problemática.....	28
Los arroyos pampeanos.....	29
Compartimentos basales de los arroyos pampeanos.....	30
Hidrología.....	34
Región hídrica del Noreste.....	36
a) Cuenca del Arroyo de la Cruz.....	36
b) Cuenca del Río Luján.....	37

Sitios de estudio.....	38
Arroyo Las Flores.....	38
Arroyo de la Cruz.....	38
Capítulo 3- Metodología.....	40
Parámetros fisicoquímicos.....	40
Medición de la espiral de nutrientes.....	42
Caracterización de los tramos.....	51
Parámetros biológicos.....	53
Metabolismo.....	56
Capítulo 4- Retención de nutrientes e influencia de la producción primaria a lo largo de un ciclo anual en dos arroyos pampeanos: trabajo de campo.....	64
Introducción.....	64
Diseño experimental.....	66
Análisis Estadístico.....	67
Resultados.....	68
Características fisicoquímicas, hidráulicas y morfométricas.....	68
Métricas de retención de nutrientes.....	69
Biomasa y estructura de las comunidades.....	73
Metabolismo del ecosistema.....	79
Metabolismo de los compartimentos basales.....	83
Factores que influyen en la retención de nutrientes y modelos de captación...	88
Discusión.....	96
Métricas de retención de nutrientes en arroyos pampeanos.....	96
Factores que influyen en la retención de nutrientes.....	97
Falta de saturación en la captación de nutrientes.....	100
Control de la captación de nutrientes en arroyos pampeanos.....	102
Recapitulación de las hipótesis.....	104
Conclusiones.....	105

Capítulo 5- Captación abiótica de fosfato y amonio en el sedimento, captación autotrófica y heterotrófica del epipelon, y su influencia en la retención de nutrientes: una aproximación experimental	107
Introducción.....	107
Metodología.....	110
Ensayo preliminar.....	110
Captación biótica y abiótica de fosfato en el sedimento.....	110
Diseño experimental.....	111
Captación biótica y abiótica de amonio en el sedimento.....	114
Diseño experimental.....	114
Análisis Estadístico.....	114
Resultados.....	115
Captación biótica y abiótica de fosfato en el sedimento.....	115
Captación biótica y abiótica de amonio en el sedimento.....	121
Discusión.....	127
Retención de fosfato.....	127
Retención de amonio.....	129
Conclusiones.....	132
Capítulo 6- Discusión general y conclusiones	134
Introducción.....	134
Capacidad de retención y falta de saturación en la captación.....	
de nutrientes.....	135
Factores que influyen en la retención de nutrientes.....	138
Factores que influyen en la retención de fosfato.....	138
Factores que influyen en la retención de amonio.....	140
La función de las macrófitas en la retención de nutrientes.....	142
Consideraciones finales.....	142
Conclusiones.....	143
Referencias	145
Anexo	170
Glosario	171

Capítulo 1-Introducción General

Durante decenas de años, la actividad agrícola en la región pampeana se ha caracterizado por la escasa utilización de fertilizantes. Esto ha llevado a una productividad agrícola aceptablemente sustentable en la región, y a que sólo se haya afectado la estructura y el contenido de nutrientes en los suelos de las zonas más productivas (Viglizzo *et al.* 2001). Sin embargo, desde la década del '90 se ha iniciado un proceso de intensificación de la agricultura y la ganadería asociado al incremento en el uso de fertilizantes y plaguicidas, junto con la expansión del cultivo de granos y de pasturas implantadas que reemplazan a los pastizales naturales. Debido a que los arroyos poseen una gran interrelación con las tierras adyacentes, las modificaciones en el uso que en éstas se producen pueden impactar directamente sobre estos ecosistemas debido al ingreso de nutrientes en exceso al cuerpo de agua (Margalef 1994, Vilches 2012). El aumento de la carga de nutrientes en ríos y arroyos se ha convertido en uno de los mayores problemas ambientales que enfrenta la sociedad en la actualidad. La contaminación a través de fuentes no puntuales, asociado al cambio en las prácticas y el uso del suelo han generado un aumento de los cuerpos de agua deteriorados (Jordan *et al.* 1997, Carpenter *et al.* 1998, Allan 2004, Withers y Jarvie 2008). Los daños incluyen la eutrofización, la generación de blooms algales, la contaminación térmica, el aumento de la sedimentación, y el aumento de la carga de contaminantes, tales como pesticidas, grasas y aceites. Esto ha impulsado numerosos estudios sobre la dinámica de los nutrientes en estos ecosistemas, con el objeto de controlar y reducir sus concentraciones. La habilidad de los ecosistemas fluviales de asimilar estos factores de estrés sin exhibir deterioros permanentes depende, en gran medida, de su biología, su química, su geología y su geomorfología (Steinman y Mulholland 2007).

Como consecuencia de la intensificación de la agricultura, los arroyos pampeanos están sufriendo un deterioro físico y químico (Feijoó *et al.* 1999, Gómez y Licursi 2001, O'Farrell *et al.* 2002, Rodríguez Capítulo *et al.* 2010) sin que se conozca, en detalle, su capacidad para procesar los nutrientes que pueden ingresar en exceso ni los efectos reales que estos impactos tienen sobre las comunidades presentes en ellos (Bauer 2009, Cortelezzi 2010, Licursi 2005, Loez y Topalián 1999, Sierra y Gómez 2007, 2010; Sierra 2009,

Vilches 2012). El análisis de la capacidad de retención de nutrientes aparece entonces como un aspecto relevante en la conservación de arroyos y ríos pampeanos.

En los ecosistemas fluviales, las comunidades autótrofas, y en especial las algas y bacterias, representan un sumidero biótico potencial para los contaminantes (tales como los nutrientes en exceso) de considerable trascendencia (Mulholland y Rosemond 1992, Bernhardt *et al.* 2003). Por consiguiente, determinar las tasas de captación de nutrientes por las comunidades puede proveer importante información a la hora de analizar cuán amplia puede ser la carga de nutrientes que un arroyo puede procesar antes de que su integridad se vea negativamente afectada (ver Dodds 2003, Steinman y Mulholland 2007).

Retención de nutrientes en los ecosistemas fluviales

Los ecosistemas fluviales son sistemas abiertos expuestos a una entrada continua de material particulado y disuelto procedente de la cuenca de drenaje. Parte de ese material es procesado por los organismos y otra parte puede ser retenida por diversos mecanismos físicos y químicos. En concreto, estos ecosistemas se caracterizan por su elevada capacidad para transformar y retener nutrientes. La capacidad intrínseca de los ecosistemas fluviales para captar, almacenar o incluso eliminar nutrientes inorgánicos se denomina retención de nutrientes. Cuando un nutriente es retenido puede afectar la productividad y funcionamiento del ecosistema, como así también la química de los sedimentos. En algunos casos, puede producirse una eliminación permanente (ej. desnitrificación), mientras que en otros puede ocurrir una retención temporaria (ej. asimilación por la biota o adsorción al sedimento).

La dinámica de solutos hace referencia a los patrones espaciales y temporales de transporte y transferencia de materiales que se encuentran químicamente disueltos en el agua. Esta dinámica se encuentra acoplada a los movimientos físicos del agua en todos los ecosistemas. En ríos y arroyos, Webster y Patten (1979) propusieron un nuevo concepto para describir la dinámica de nutrientes denominado *espiral de nutrientes* (Webster y Patten 1979, Newbold *et al.* 1983) que combina la retención con el transporte longitudinal de solutos (Stream Solute Workshop 1990). Este concepto hace referencia a que el ciclo de nutrientes, en un sistema fluvial, no ocurre en un mismo tramo, sino que se cierra aguas abajo (Newbold 1992, Martí y Sabater 2009). A medida que los solutos circulan entre los

componentes bióticos y abióticos del arroyo, están sujetos al transporte río abajo y, por lo tanto, el ciclo se asemeja a una espiral (Stream Solute Workshop 1990). La espiral de nutrientes describe un aspecto clave de la transformación de los nutrientes disponibles en un arroyo (Newbold *et al.* 1981), y es un componente central de la función del ecosistema (O'Brien y Dodds 2008).

Factores que influyen en la retención de nutrientes

La retención de nutrientes es una función primordial de los sistemas fluviales que ha sido intensamente estudiada a lo largo de diferentes regiones geográficas durante los últimos 25 años. Sin embargo, algunos procesos y mecanismos de este atributo funcional aún no se comprenden completamente, especialmente en lo que respecta a los arroyos no forestados. Antes de 1986, los estudios sobre el flujo de nutrientes eran, en su mayoría, sobre fósforo (P), mientras que, los más recientes han puesto mayor énfasis en el nitrógeno (N). Estudios que abarquen N y P al mismo tiempo son generalmente poco frecuentes (Mullholland y Webster 2010).

En los ecosistemas lóticos, la retención de nutrientes resulta de la interacción de propiedades hidrológicas, químicas y biológicas (Figura 1.1). La retención hidrológica se produce cuando el agua entra en trayectorias de flujo que se mueven más lento que la velocidad de advección del canal principal (como las zonas de pozas, las aguas estancadas y el hiporreico), lo que resulta en un mayor tiempo de residencia del agua. Esto favorece, a su vez, la exposición de los nutrientes disueltos a sustratos bioquímicamente reactivos. Los procesos abióticos de adsorción, floculación y precipitación determinan la retención química ya que retardan el transporte de solutos. Finalmente, la retención biológica (captación autotrófica y heterotrófica) es llevada a cabo por bacterias, algas, hongos y macrófitas mediante la generación, inmovilización, transformación o eliminación de solutos biológicamente activos. Si bien todos los solutos disueltos son influenciados por la retención hidráulica del agua, dependiendo del nutriente en cuestión, los procesos de retención química y biológica podrán ser determinantes minoritarios o mayoritarios de la retención. Para el amonio y el fosfato, por ejemplo, algunos procesos como la adsorción abiótica pueden ser más relevantes en ciertos ecosistemas. La retención total del ecosistema

resulta, entonces, del producto de las tasas de procesamiento químico y biológico y el tiempo de residencia del agua (Valett *et al.* 1996; Ensign y Doyle 2006).

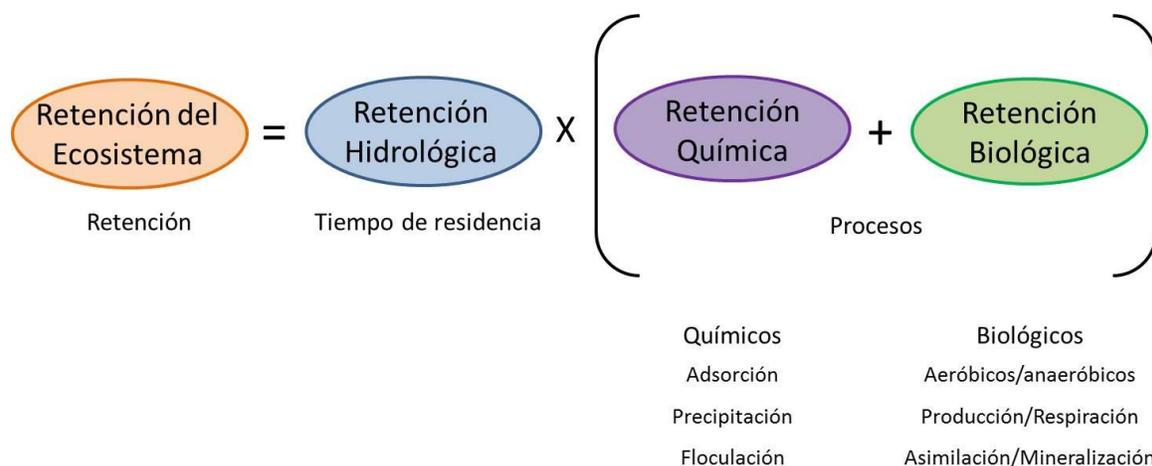


Figura 1.1. Modelo conceptual de los factores que influyen en la retención de nutrientes en ecosistemas fluviales. La retención hidrológica resulta de las características estructurales de la superficie que retardan el flujo y de la interacción entre el agua superficial y subterránea que aumenta el tiempo de residencia. El ciclo de nutrientes y los procesos metabólicos promueven la retención biológica. Para ciertos solutos y bajo ciertas condiciones, la retención química puede ser un importante mecanismo de retención. La retención total del ecosistema resulta del producto entre las tasas de procesamiento (biológicas y químicas) y el tiempo de residencia del agua (tomado de Valett *et al.* 1996).

Según estudios previos, la retención de nutrientes en arroyos está influenciada por numerosos factores, incluyendo el tamaño del arroyo (Wollheim *et al.* 2001), la zona de almacenamiento o retención transitoria (ZRT) (Grimm y Fisher 1984, Jones y Holmes 1996, Valett *et al.* 1996, Mulholland *et al.* 1997, Hall *et al.* 2002), el tiempo de residencia del agua (Valett *et al.* 1996), la temperatura del agua (Butturini y Sabater, 1998), las concentraciones basales de nutrientes (Dodds *et al.* 2002, Webster *et al.* 2003), la hojarasca (Mulholland *et al.* 1985), la vegetación ribereña (Sabater *et al.* 2000) y la biomasa del perifiton (Martí *et al.* 1997). El análisis de la bibliografía sobre la retención de nutrientes en arroyos evidencia que la mayoría de los trabajos se centran en la influencia de factores físicos. Sin embargo, según el Stream Solute Workshop (1990) de todos los procesos que intervienen en la dinámica de nutrientes tendrían mayor peso la adsorción y la captación heterotrófica. Mientras que los atributos antes mencionados pueden explicar, en parte, las variaciones en las tasas de captación de nutrientes, sólo afectan de forma indirecta la

capacidad de los organismos de tomar los nutrientes del agua. Sin embargo, las métricas de la actividad biológica (es decir, las tasas metabólicas del ecosistema) deberían ser mejores predictores de la captación de nutrientes que las variables físicas (Hall y Tank 2003, Roberts y Mulholland 2007).

La retención de nutrientes dentro de un arroyo juega un importante papel en la prevención de la eutrofización de los cuerpos de agua río abajo (Mulholland *et al.* 2008a) y es de esperar que los organismos autótrofos sean controladores clave de la retención de nutrientes (Hall y Tank 2003, Simon *et al.* 2007, O'Brien *et al.* 2014). El aumento en la concentración y los cambios en las proporciones relativas de los diferentes nutrientes (por ejemplo, N:P) o de las formas de N (por ejemplo, NO_2^{3-} a NH_4^+) pueden alterar los procesos que ocurren dentro de los ecosistemas fluviales, incluyendo la captación de nutrientes, las tasas de descomposición, y la producción primaria (Wenger *et al.* 2009). El metabolismo del ecosistema y el ciclo de nutrientes se encuentran fuertemente vinculados en muchos ecosistemas acuáticos. Dentro de los ecosistemas fluviales, la retención de nutrientes está regulada, en gran medida, por la producción autotrófica (Mulholland *et al.* 2006). Esto se debe, en parte, a la rápida tasa de recambio de los biofilm algales y a la estimulación de la producción heterótrofa a partir de materia orgánica lábil autóctona (Fellows *et al.* 2006, O'Brien *et al.* 2014). Estudios previos que vinculan directamente al metabolismo del ecosistema con la retención de nutrientes en arroyos, han demostrado que un arroyo con altas tasas de respiración del ecosistema (RE) posee mayores tasas de retención de fósforo que un arroyo con baja RE (Mulholland *et al.* 1997). En un estudio en varios ríos del Parque Nacional Gran Teton, Hall y Tank (2003) encontraron que el 82% de la variación en la captación de amonio podía ser explicada por las tasas de producción primaria bruta (PPB) y por la RE, mientras que la absorción de nitrato estuvo controlada sólo por la PPB. En arroyos de España, la captación de fosfato (pero no la de amonio) estuvo correlacionada con la PPB (Sabater *et al.* 2000). Mientras que en arroyos de pradera de Estados Unidos, la captación de nitrógeno estuvo estrechamente relacionada con la PPB (Valett *et al.* 2008). Además, varios estudios han proporcionado evidencia indirecta del control biótico en las tasas de retención de nutrientes (Roberts y Mullholland 2007). Todos estos aspectos han sido muy bien estudiados en arroyos heterotróficos, pero existe poca información en relación a arroyos autotróficos.

Ciclo y retención de fósforo y nitrógeno en arroyos

El nitrógeno y el fósforo son considerados los principales macronutrientes limitantes de la productividad de los ecosistemas acuáticos. En el marco de la biogeoquímica, poseen un protagonismo destacado ya que son elementos esenciales para la biota y debido a que la alteración de sus concentraciones, a causa de la actividad humana, tiene implicancias socioeconómicas y sanitarias que van mucho más allá de las estrictamente ecológicas (Butturini *et al.* 2009).

El fósforo

El fósforo es un elemento esencial de gran interés ecológico debido a su importante papel en el metabolismo biológico y a las relativamente pequeñas cantidades de fósforo disponible presentes en la hidrosfera en comparación con otros elementos como carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y azufre. Por lo tanto, es considerado como el elemento más propenso a limitar la producción primaria en los ecosistemas de agua dulce (Schindler 1977, Hecky y Kilham 1988, Hudson *et al.* 2000, Wetzel 2001, Steinman y Mulholland 2007). En contraste con las numerosas formas de nitrógeno presentes en los ecosistemas acuáticos, la forma inorgánica más importante de fósforo es el ortofosfato (PO_4^{3-}). Más del 90% del fósforo presente en el agua dulce se presenta en forma de fosfatos orgánicos y como constituyentes celulares en la biota y adsorbido a materiales particulados orgánicos e inorgánicos (Wetzel 2001). Algunas de sus funciones más importantes incluyen, entre otras, ser un componente estructural de las moléculas portadoras de energía, tales como el ATP, y de numerosas coenzimas esenciales y fosfolípidos. Así mismo, es un elemento esencial en la transmisión de la información genética, como parte de los nucleótidos de ADN y ARN (Steinman y Mulholland 2007).

Una variedad de fuentes naturales y antropogénicas aportan P a los ríos y arroyos a través de diferentes vías y en diferentes épocas del año. Las fuentes naturales incluyen la atmósfera, la erosión natural del material parental de los suelos (Holtan *et al.* 1988), la vegetación ribereña (Meyer y Likens 1979) y la erosión de las orillas de los ríos (Walling *et al.* 2008). Estas fuentes proporcionan generalmente muy pequeñas cantidades de P a los ríos que son, predominantemente, en forma de P particulado. Los ingresos de P de origen antropogénico pueden ser a través del vertido de fuentes puntuales muy concentradas en P

soluble o a través de fuentes difusas que llegan por escorrentía superficial y subsuperficial durante las tormentas y que, por lo general, tienen una mayor proporción de formas particuladas (Withers y Jarvie 2008).

En los ecosistemas fluviales, el fósforo es química y biológicamente muy activo y sufre numerosas transformaciones y movimientos entre las fases particulada y disuelta, entre los sedimentos y la columna de agua, y entre el ambiente biótico y abiótico (Mainstone y Parr 2002) (Figura 1.2). No todo el P que entre en un arroyo jugará una parte igual en los ciclos biogeoquímicos sino que dependerá de la forma en que el P entre al río, de su reactividad y del tiempo de residencia del agua (Withers y Jarvie 2008).

Junto con la depositación y la resuspensión de partículas en los sedimentos, la adsorción directa y la desorción también son mecanismos importantes que dependen de los niveles de fósforo en agua, de las concentraciones relativas en agua y en los sedimentos y de la velocidad de corriente. El P disuelto interactúa fuertemente con partículas tales como aluminosilicatos (arcillas) (House *et al.* 1998), y óxidos e hidróxidos metálicos, en particular de hierro (Fe) y aluminio (Al) (Lijklema 1980, Zhang y Huang 2007, Withers y Jarvie 2008). A su vez, el fósforo también puede co-precipitar junto con el carbonato de calcio en zonas de aguas duras. Tanto el fósforo orgánico como el inorgánico pueden unirse a los biofilm en la interfase sedimento-agua (Neal 2002a, b; Jarvie *et al.* 2002). El fósforo lábil unido a las partículas en suspensión puede sufrir una rápida desorción en la columna de agua y convertirse en biodisponible, dependiendo nuevamente, de la concentración de equilibrio de las partículas y de la concentración de fósforo en la columna de agua (Mainstone y Parr 2002).

Las algas filamentosas, epífitas y planctónicas, generalmente, toman fósforo directamente de la columna de agua y tienen la capacidad de asimilar tanto la fracción orgánica como inorgánica del P, principalmente en arroyos poco profundos (Bentzen *et al.* 1992, Whitton *et al.* 1998, Dodds 2003, Withers y Jarvie 2008). Por su parte, las macrófitas con raíces pueden tomar P tanto del agua como del sedimento. En el caso de algas y bacterias, el fósforo puede ser asimilado con la ayuda de una enzima extracelular, la fosfatasa que hidroliza los enlaces éster de fosfato, liberando ortofosfato (PO_4^{3-}) a partir de compuestos de fósforo orgánicos (Wetzel 2001, Steinman y Mulholland 2007). La captación de fósforo microbiana desde la columna de agua y, más particularmente, dentro

del sedimento, también puede ser sustancial. Por otro lado, la mineralización de la materia orgánica por la comunidad microbiana conducirá a la liberación de fósforo tanto en el agua como en el sedimento, compensado, en parte, la captación por algas y plantas mayores (Mainstone y Parr 2002).

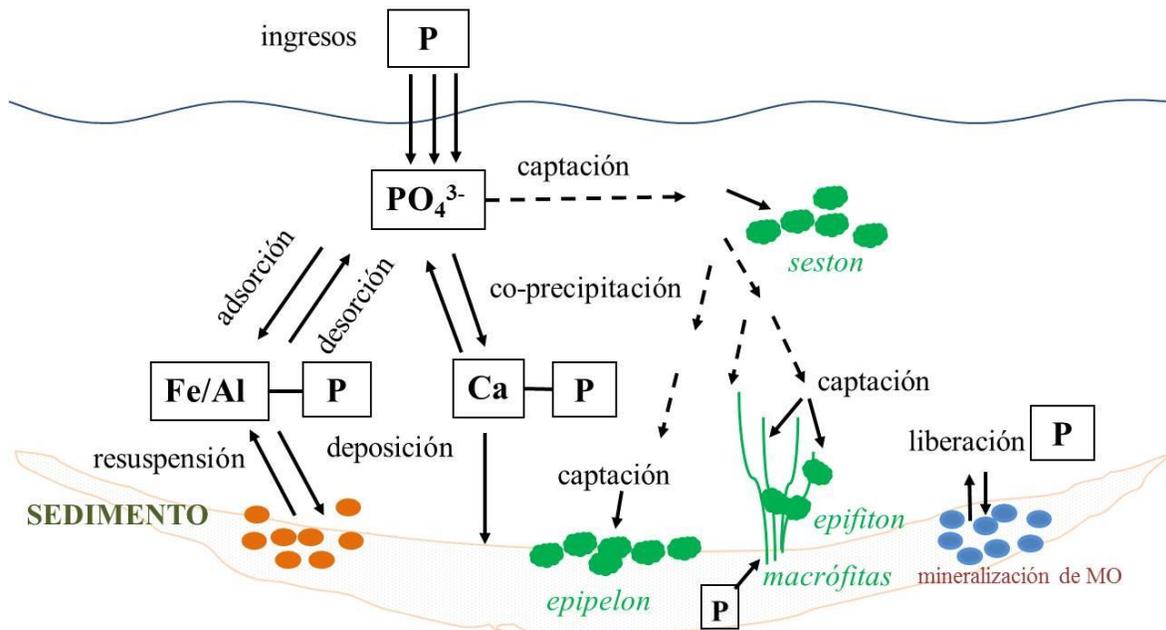


Figura 1.2 Mecanismos de retención y remoción de fósforo en ecosistemas lóticos (tomado de Withers y Jarvie 2008).

La presencia de P en exceso puede modificar drásticamente las características de un curso de agua y puede derivar en su eutrofización, ocasionando problemas tanto a la salud humana (como por ejemplo la presencia de toxinas algales) como a los ecosistemas (Withers y Jarvie 2008). Los cambios en los niveles de fósforo pueden derivar en cambios en la abundancia de especies y en la diversidad en los cursos de agua, siendo los ríos, particularmente vulnerables a estos cambios. La incidencia y severidad de este fenómeno de eutrofización pueden ser variables temporalmente, dependiendo de otros factores además del incremento de fósforo (régimen hidrológico, profundidad del agua, turbidez, temperatura, cobertura ribereña, presión por pastoreo y presencia de otros nutrientes como C, N y Si, o la relación N/P) (Dodds 2007, O’Farrell *et al.* 2012, Rodríguez Castro 2015).

El nitrógeno

El nitrógeno circula a través de la atmósfera y la tierra mediante un complejo ciclo compuesto de transformaciones bióticas y abióticas (Tank *et al.* 2007). Una parte importante del nitrógeno de la biósfera proviene de la fijación del nitrógeno molecular atmosférico (N_2) (Figura 1.3). A lo largo de su ciclo se produce nitrógeno molecular a través de la fijación, asimilación y posterior denitrificación mediante la cual el nitrato se reduce a N_2 . En los ecosistemas acuáticos, el ciclo del nitrógeno constituye un proceso de naturaleza microbiana, donde la oxidación y la reducción bacteriana de los compuestos de nitrógeno se encuentran asociados a la asimilación fotosintética y a su utilización por las algas y las plantas acuáticas. Dentro de los organismos, el nitrógeno fijado y el asimilado en forma de amonio o nitrato sufren una aminación, convirtiéndose en compuestos orgánicos nitrogenados. La mayor parte del nitrógeno orgánico se combina y es reciclado cuantitativamente en los organismos fotosintetizadores y microbianos. Durante el metabolismo normal de estos organismos, y especialmente cuando mueren, es liberado en forma de amonio y de distintos compuestos orgánicos con diferente resistencia a la desaminación proteolítica y a la amonificación por las bacterias heterótrofas. Bajo condiciones aeróbicas el amonio es, en su mayor parte, oxidado antes que el nitrato, produciéndose la liberación de energía libre que es utilizada por las bacterias nitrificantes para la descomposición de los compuestos orgánicos. La reducción de los nitritos y nitratos a N_2 a través del proceso de denitrificación devuelve el N_2 a la atmósfera (Wetzel 1981) (Figura 1.3).

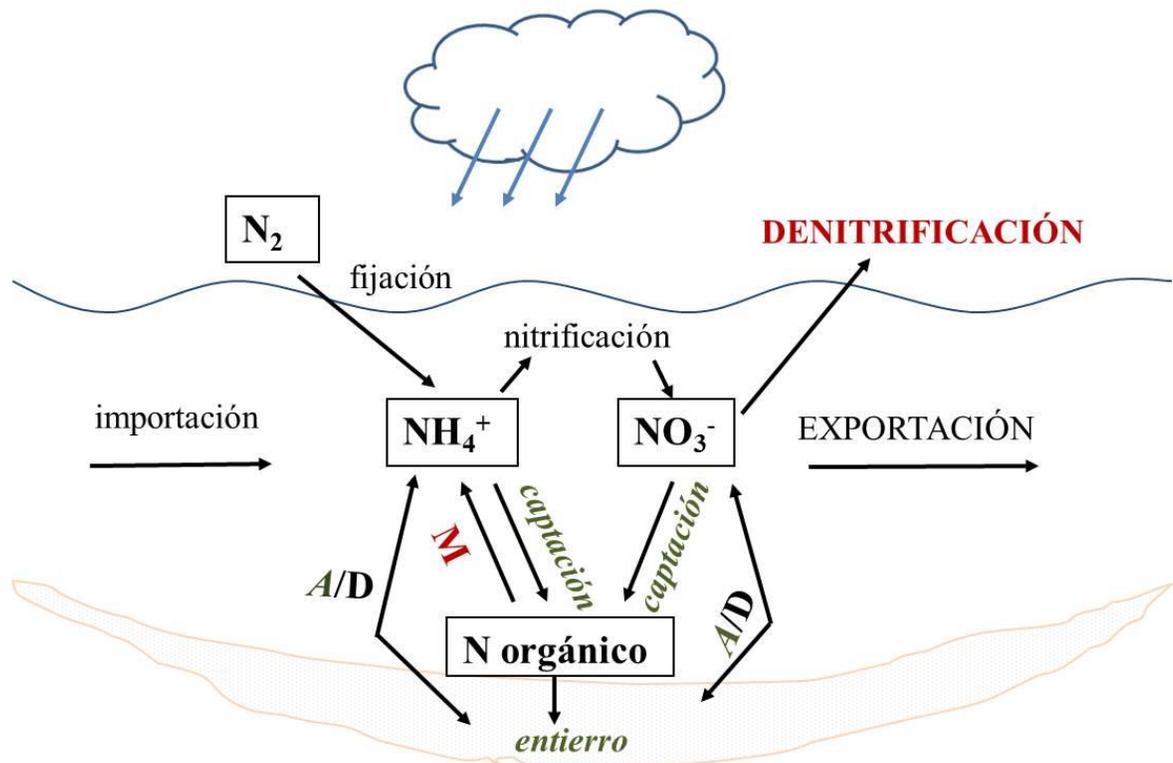


Figura 1.3. Ciclo y mecanismos de retención y remoción de nitrógeno en ecosistemas lóticos. M= mineralización, A= adsorción, D= desorción. Los mecanismos de remoción (denitrificación, exportación) están en mayúscula y los de retención (adsorción, captación y entierro) en itálica (Modificado de Bernot y Dodds 2005).

En las aguas dulces, el nitrógeno se encuentra bajo diversas formas: como N_2 disuelto, como un gran número de compuestos orgánicos (desde aminoácidos y aminos hasta proteínas y compuestos húmicos resistentes con poco nitrógeno), como amonio (NH_4^+), como nitrito (NO_2^-) y como nitrato (NO_3^-). El origen o las fuentes del nitrógeno pueden ser: a) por precipitación directa sobre la superficie del agua, b) por fijación del N_2 tanto en el agua como en los sedimentos, y c) por aportes debidos al drenaje superficial y subterráneo. Las pérdidas de nitrógeno pueden deberse a: a) salida de los efluentes de la cuenca, b) reducción del nitrato a N_2 a causa de la denitrificación bacteriana y c) pérdida permanente en los sedimentos de compuestos de nitrógeno orgánicos e inorgánicos (Wetzel 2001).

El N que ingresa en ríos y arroyos puede ser retenido temporalmente o removido de forma permanente. Los mecanismos de retención de N en arroyos incluyen la captación

biológica, la adsorción y el entierro, que almacena N temporalmente en los sedimentos y la materia orgánica (Figura 1.3). Los mecanismos de remoción incluyen la denitrificación y la exportación río abajo. Todas estas vías de retención y eliminación son finitas, excepto por el transporte de N. A su vez, la remineralización y la desorción pueden generar una mayor exportación río abajo (Bernot y Dodds 2005).

Las actividades humanas tales como la quema de combustibles fósiles, la siembra de cultivos fijadores de nitrógeno, el uso de fertilizantes y la eliminación de aguas residuales (Schlesinger 1997, David y Gentry 2000), prácticamente han duplicado los ingresos de N al ciclo global (Vitousek 1997). Este exceso ha convertido a los ecosistemas que alguna vez tuvieron limitación por N, en sistemas saturados (Fenn *et al.* 1998, Duff y Triska 2000, Bernot y Dodds 2005). El aumento de nitrógeno en ríos y arroyos genera problemas tales como la eutrofización y la reducción de la biodiversidad, lo que disminuye la salud del ecosistema y conduce a la pérdida de bienes y servicios ecosistémicos. El destino final del amonio y el nitrato de origen antropogénico varía en función de la demanda biótica (Duff y Triska 2000), las características de adsorción, el tipo de sustrato (Kemp y Dodds 2002a), y la retención física de los arroyos (Bernot y Dodds 2005). En arroyos de cabecera, el ciclo del nitrógeno ha recibido, recientemente, una considerable atención debido a la potencialidad que éstos poseen de procesar N e influenciar su exportación río abajo (Alexander *et al.* 2000, Sabater *et al.* 2000, Peterson *et al.* 2001).

Métodos de medición de la retención de nutrientes

La longitud de la espiral de nutrientes se define como la distancia que viaja un átomo de nutriente durante un ciclo completo (desde el estado disuelto en el agua pasando por transformaciones a formas particuladas/orgánicas y regresando, eventualmente, al estado disuelto en el agua) (Stream Solute Workshop 1990). Esta longitud es la suma de dos distancias: la *distancia de captación o asimilación* (S_w) y la *distancia de retorno* (S_B) (Figura 1.4). La *distancia de captación* es la distancia que recorre un nutriente en solución antes de ser retenido en forma biótica o abiótica (por procesos físicos o químicos). La *distancia de retorno* es el trayecto recorrido en forma orgánica/particulada antes de ser liberado nuevamente al agua. En general, ha sido observado que la distancia de captación

constituye la mayor parte de la longitud de la espiral (Newbold *et al.* 1981). Por esta razón, y debido a la dificultad de medir la longitud en otros compartimientos, los estudios se han concentrado en la estimación de S_w . La distancia de captación indica la eficiencia de retención de un nutriente por parte del ecosistema fluvial, es decir, la tasa de retención relativa al flujo del nutriente. Un menor valor de S_w indica una mayor eficiencia de retención del nutriente en el arroyo estudiado. A su vez, la distancia de retorno indica la capacidad de asimilación y transferencia a la red trófica por parte de la biota fluvial, por lo que distancias de retorno largas indican que el ecosistema posee una elevada capacidad de retención (Martí y Sabater 2009).

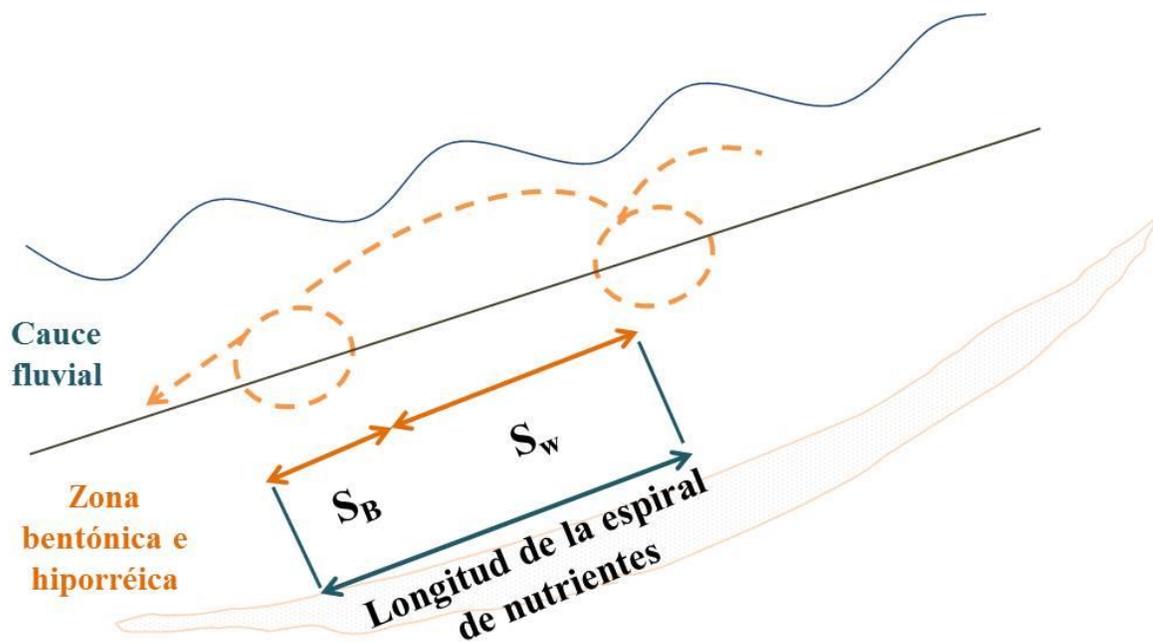


Figura 1.4. Esquema de la espiral de nutrientes (línea punteada) y sus dos componentes: la distancia de captación (S_w) y la distancia de retorno (S_B) (tomado de Martí y Sabater 2009).

Existen distintas métricas para expresar la retención de nutrientes en ríos, pero todas derivan de la distancia de captación. Además de esta métrica, las más utilizadas son la velocidad de captación (V_f) que indica la velocidad de movimiento de las moléculas de nutrientes desde la columna de agua al sedimento y la tasa de asimilación (U) que es la masa de nutriente retenido por unidad de tiempo y superficie. V_f es una medida de la eficiencia del proceso de retención mientras que U indica la capacidad de retención por parte del río (Stream Solute Workshop 1990). La velocidad de captación corrige el efecto

del caudal sobre la retención mientras que la tasa de asimilación corrige el efecto de la carga de nutrientes. Es por eso que estas dos métricas permiten comparar la retención de nutrientes entre ríos y arroyos con diferente caudal y concentración de nutrientes (Martí y Sabater 2009).

El estudio de la retención de nutrientes en ríos y arroyos se ha abordado tradicionalmente a partir de la adición de nutrientes (Meyer y Likens 1979, Munn y Meyer 1990, D'Angelo *et al.* 1991, Webster *et al.* 2000). Las adiciones permiten estimar la retención de nutrientes en arroyos a partir del cálculo de la distancia de asimilación y las métricas que derivan de ésta (V_f y U). La metodología consiste en incrementar ligeramente la concentración basal de nutrientes en el arroyo añadiendo una solución concentrada y seguir su decaimiento temporal y espacial aguas abajo, como resultado de los procesos de retención bióticos y abióticos. Técnicamente, existen dos maneras de realizar adiciones de solutos y, por tanto, de estimar la retención de nutrientes: adiciones continuas o de pulso constante y adiciones puntuales. En las adiciones continuas, los solutos se liberan a un flujo constante hasta que la concentración aguas abajo alcanza un valor constante. Esta condición conceptual de meseta indica que la concentración del nutriente añadido se distribuye uniformemente a lo largo de todo el tramo de estudio. En los experimentos de adición puntual, los nutrientes son liberados de una sola vez y un pulso de nutrientes añadidos se mueve rápidamente aguas abajo (Gordon *et al.* 2004).

La disminución de nutrientes puede ser estimada tanto en el tiempo como en el espacio. Para estimar el decaimiento temporal, la curva de variación temporal de nutrientes debe ser monitoreada en el punto de muestreo aguas abajo. Esto hace que sea posible calcular la masa de nutrientes que sale del tramo de estudio, a partir de la cual se puede calcular la tasa de captación temporal (k_t) (Wilcock *et al.* 2002). Para estimar la disminución espacial de nutrientes (k_c), la curva de variación espacial debe ser monitoreada a lo largo de todo el tramo experimental. En ambos métodos k_t puede estimarse, por el contrario, k_c sólo es posible estimarla en adiciones continuas, debido a la distribución uniforme de nutrientes durante las condiciones de meseta a lo largo del tramo experimental.

Los resultados de una adición continua permiten calcular de manera directa la distancia de asimilación a partir de la obtención de k_c (Álvarez *et al.* 2010). De todas formas, las tasas obtenidas a partir de las dos técnicas son intercambiables a partir de la

velocidad promedio del agua (Runkel 2007). Cabe aclarar que para que la tasa obtenida refleje la tasa de retención del ecosistema en condiciones basales de nutrientes, la adición no debe aumentar la concentración de nutrientes al punto de saturar el sistema. Así mismo, debe tenerse en cuenta que estas técnicas sólo pueden aplicarse en ríos pequeños o medianos (con caudales menores a 500 L/s) debido al volumen de adición necesario para llevar a cabo la metodología (Martí y Sabater 2009). A pesar de esto, Tank *et al.* 2008 llevaron a cabo una adición puntual en un gran río (con caudal de 12 000 L/s) en Wyoming, USA, utilizando los volúmenes de adición necesarios para llevar a cabo tal metodología.

Modelos que describen la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en arroyos

Las relaciones entre el suministro de nutrientes, la concentración ambiental en la columna de agua y la respuesta ecológica son complejas. Los tiempos de residencia pueden fluctuar ampliamente y la capacidad de los ecosistemas fluviales de asimilar los nutrientes es espacial y temporalmente muy variable (Fisher *et al.* 1998, Edwards y Withers 2007, Withers y Jarvie 2008). En base a publicaciones previas, O'Brien *et al.* (2007) propusieron tres posibles modelos que describen la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en arroyos. El primer modelo es un modelo de respuesta de primer orden en el cual las tasas de procesamiento son directamente proporcionales a la concentración de nutrientes. En este modelo, las tasas de procesamiento (expresada como U), aumentan linealmente con la concentración ($U = k*[N]$), mientras que la eficiencia de retención (expresada como V_f) y la distancia de asimilación no varían con el aumento de la concentración (Figura 1.5). El segundo modelo asume una cinética de captación del tipo Michaelis-Menten donde las tasas de procesamiento se saturan cuando el suministro de nutrientes excede la demanda biológica. En este modelo, U presenta una relación hiperbólica con el aumento de la concentración

$$U = \frac{U_{\max} * [N]}{K_s + [N]}$$

donde U_{\max} es la tasa máxima de captación, k_s es el coeficiente de saturación media y N es la concentración de nutriente. Como resultado de la saturación, la longitud de captación aumenta y la velocidad de captación disminuye con el aumento de la concentración de nutrientes. En el tercer modelo, la tasa de procesamiento de nutrientes por parte de la biota aumenta con la disponibilidad de nutrientes pero la eficiencia del proceso disminuye en relación a la concentración. Este modelo es descrito por una relación entre la tasa de captación y la concentración en la cual el exponente es menor que uno ($U=k*[N]^m$, donde $m<1$). Este modelo de pérdida de eficiencia predice que las tasas de procesamiento y la longitud de captación aumentarán de forma no lineal con el aumento de la concentración mientras que la velocidad de captación disminuirá a lo largo del gradiente de concentración, también de manera no lineal.

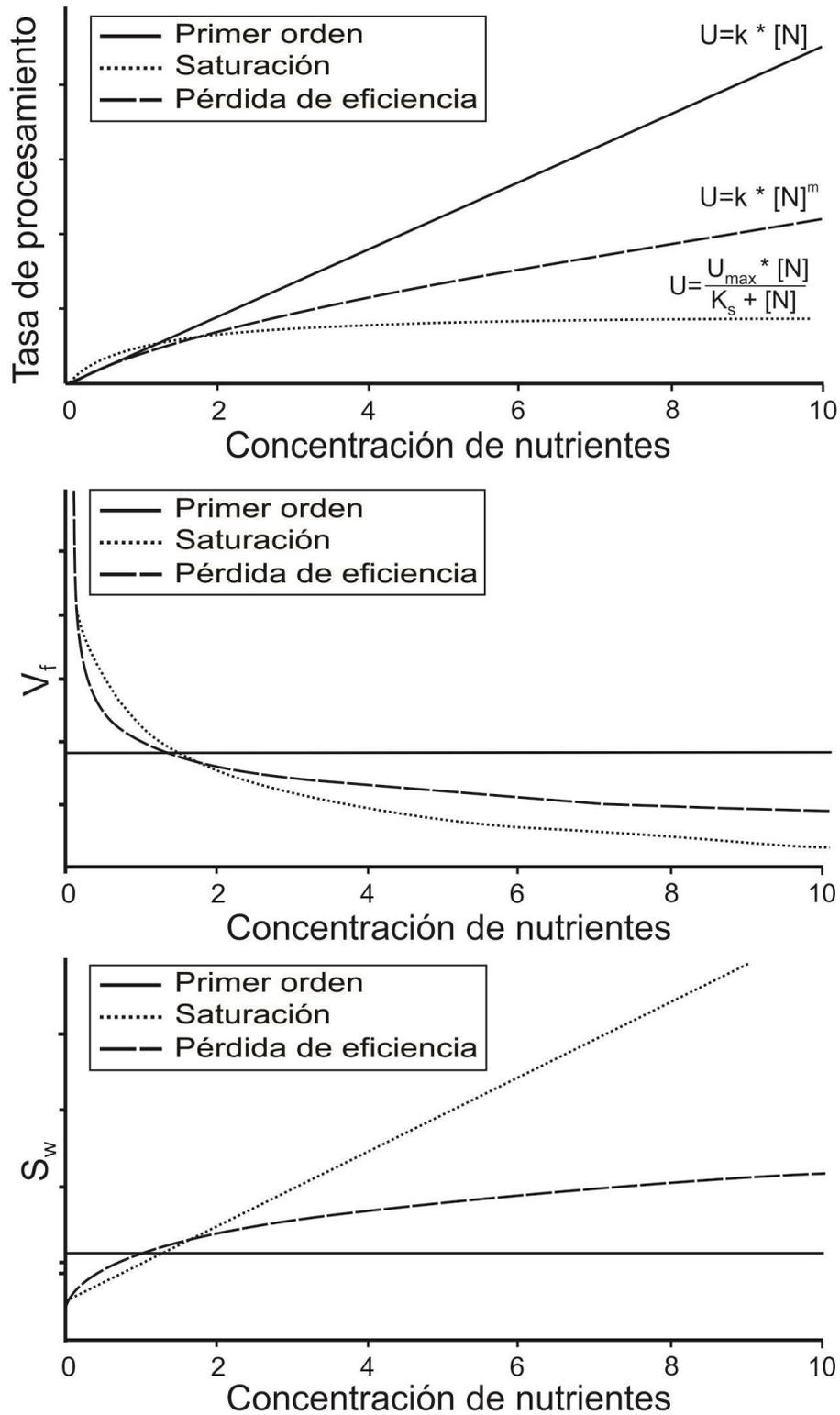


Figura 1.5. Comparación de los tres modelos de relación entre las tasas de procesamiento y la concentración de nutrientes. Las escalas son lineales (tomado de O'Brien *et al.* 2007).

Construcción de las hipótesis de trabajo

En los arroyos pampeanos, a diferencia de los arroyos forestados que se hallan en otras regiones, la falta de bosques de ribera en sus cabeceras, la presencia de vegetación herbácea (que proporciona bajos insumos de materia orgánica alóctona), la escasa velocidad de corriente y la alta irradiación favorecen el crecimiento de densas comunidades macrofíticas, en torno a las cuales se estructuran el resto de las comunidades (epifiton, invertebrados y peces) (Giorgi *et al.* 2005). Asimismo, todo esto favorece los procesos de producción primaria autóctonos-autotróficos en su funcionamiento, con altos valores del índice P/R (Vilches y Giorgi 2010, Acuña *et al.* 2011).

Debido a la alta biomasa y diversidad de plantas acuáticas que poseen cabría esperar que los arroyos pampeanos presentaran altas eficiencias de retención. Existen evidencias a favor de que la retención de nutrientes puede ser alta en estos sistemas (Feijoó *et al.* 2011, Rodríguez Castro 2015), a pesar de las elevadas concentraciones de nutrientes que registran. Sin embargo, en un estudio realizado en un arroyo de la cuenca del río Luján, Feijoó *et al.* (2011) no observaron una relación negativa entre la longitud de la espiral de fósforo y la biomasa macrofítica. Esto podría indicar que la retención de nutrientes en los arroyos pampeanos dependería más de la biomasa y la actividad metabólica de los biofilm, mientras que las macrófitas desempeñarían un papel de tipo estructural al aumentar la heterogeneidad del hábitat (Giorgi *et al.* 2005, Ferreiro *et al.* 2011).

En estudios previos (Wilcock *et al.* 2002, 2004; Gücker y Boëchat 2004) se ha propuesto que la presencia de macrófitas y algas filamentosas disminuye la velocidad de corriente, aumenta el tiempo de contacto entre el nutriente y los sitios reactivos de los sedimentos y retarda el transporte de solutos aumentando el área relativa de las zonas de retención transitoria (ZRT) favoreciendo, de este modo, la retención. Un mayor desarrollo de la ZRT favorecería la captación de nutrientes al permitir un mayor tiempo de contacto entre solutos y sitios reactivos. En consecuencia, en los arroyos pampeanos, las macrófitas podrían favorecer la retención de nutrientes no por asimilación directa sino ampliando las zonas de aguas lentas y de almacenamiento transitorio y brindando un sustrato para la fijación de micro y macroalgas (Feijoó *et al.* 2011).

Debido a las características geológicas de las cuencas y a los aportes difusos que reciben, los arroyos pampeanos son eutróficos. Las altas concentraciones de fósforo se

asociarían al material parental de los suelos, mientras que las de nitrógeno al uso de suelo agrícola (Amuchástegui 2006, Feijoó y Lombardo 2007). En arroyos oligotróficos se ha demostrado que la adsorción en sedimentos puede ser un importante mecanismo de captación de fosfato y amonio, pero en ambientes eutróficos este proceso sería despreciable. Esto se debe a que los sitios de adsorción en el sedimento se encontrarían ocupados cuando hay una carga alta y constante de nutrientes (Gücker y Pusch 2006). Sin embargo, algunos autores mencionan la adsorción de fósforo al sedimento como un factor importante en arroyos de piedra caliza (Boar *et al.* 1995, Jarvie *et al.* 2006). Debido al importante contenido de CaCO_3 que los arroyos pampeanos poseen en su sustrato, la coprecipitación de fósforo y su adsorción al sedimento podría ser un factor de considerable importancia en la retención de este nutriente. Según un estudio previo realizado en el arroyo Las Flores, la retención de fosfato no presentó variaciones a lo largo del día (Martí *et al.*, datos no publicados), lo que sugiere que podría estar influyendo un mecanismo abiótico no ligado a las variaciones diarias de luz y temperatura. En consecuencia, la adsorción al sedimento debe tenerse en cuenta como un posible mecanismo que contribuye a la retención total de fósforo en estos arroyos.

En la presente tesis, se estimó la retención de fosfato y amonio en dos arroyos pampeanos con diferente estructura de las comunidades autotróficas, relacionándola con la producción de la comunidad. También se analizó la importancia relativa de cada una de las comunidades autotróficas en la eficiencia de retención. Además, se examinaron los procesos de retención química (adsorción y precipitación), mediante el análisis de la captación abiótica en el sedimento, y la captación heterotrófica y autotrófica del epipelón, a través de experiencias con arroyos artificiales.

Objetivo general

Determinar los principales factores que influyen en la retención de fosfato y amonio en arroyos pampeanos.

Objetivos específicos

Los objetivos específicos de esta tesis fueron:

- 1) Estimar la retención de fósforo (como fosfato) y de nitrógeno (como amonio) en dos arroyos pampeanos con diferente estructura de la comunidad autotrófica a lo largo de un ciclo anual.
- 2) Calcular el metabolismo (producción y respiración) de toda la comunidad y de las comunidades autotróficas en particular (epipelon, metafiton, macrófitas y epifiton).
- 3) Determinar los parámetros hidrológicos de los tramos elegidos, en especial los asociados a la zona de retención transitoria de nutrientes.
- 4) Relacionar la retención de nutrientes con la biomasa y la producción de todo el ecosistema y de las comunidades autotróficas en particular.
- 5) Analizar las relaciones entre la retención de nutrientes, la biomasa de las comunidades de macrófitas y el área relativa de la zona de retención transitoria.
- 6) Analizar la relación entre el procesamiento de fosfato y amonio y la concentración basal de nutrientes.
- 7) Determinar la influencia de los procesos de captación abiótica de fosfato y amonio en el sedimento y analizar la importancia relativa de la captación autotrófica y heterotrófica por parte del epipelon sobre la retención de ambos nutrientes.

Hipótesis de trabajo

Las hipótesis de trabajo fueron:

PARTE I: experimentos de campo

1. Primera hipótesis

La captación de nutrientes está influenciada por el caudal y el área relativa de la zona de retención transitoria, área que depende a su vez de la abundancia de macrófitas.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

- 1.1. A menor caudal y mayor biomasa macrofítica, mayor será el área relativa de la zona de retención transitoria y mayor será la retención de fosfato y amonio.

2. Segunda hipótesis

Hipótesis general

La producción autotrófica es uno de los principales factores reguladores de la retención de nutrientes en los arroyos pampeanos.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

- Cuanto mayor sea la producción autotrófica, mayor será la retención de fosfato y de amonio.

Hipótesis particular

La captación de los biofilm algales es mayor que la captación por parte de las macrófitas.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

- El aumento de la biomasa y la producción algal aumentará la retención de fosfato y amonio.

PARTE II: ensayos en arroyos artificiales

3. Tercera hipótesis

La captación abiótica de fosfato y amonio en el sedimento es un factor que regula la retención de ambos nutrientes en los arroyos pampeanos.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

- 3.1. En sedimentos libres de actividad biológica también habrá retención de nutrientes.

Organización de la tesis

La tesis está organizada en 6 capítulos. En el Capítulo 1 se realiza una descripción del ciclo de nutrientes y su rol en los ríos, los principales factores que regulan la retención de nutrientes y la metodología que comúnmente se utiliza para medirla. Así mismo se mencionan los modelos que existen para describir la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en arroyos. También se describen brevemente los antecedentes que llevaron a la construcción de las hipótesis y objetivos

propuestos. A continuación se mencionan los objetivos generales y particulares del trabajo, las hipótesis contrastadas y las predicciones que se desprenden de las mismas.

En el Capítulo 2 se describe el área de estudio donde se llevó a cabo el trabajo de campo y se colectaron las muestras para los ensayos con canales artificiales. El área se describe siguiendo tres niveles de detalle, primero una caracterización general de la región y sus arroyos, seguida de una breve caracterización de la cuenca del Río Luján y de la cuenca del Arroyo de la Cruz y, finalmente, una descripción de los sitios de muestreo.

En el Capítulo 3 se presentan y describen en detalle las técnicas generales que se utilizaron tanto en los experimentos de campo como en los ensayos de laboratorio. En los siguientes capítulos, se mencionan las técnicas utilizadas particularmente en cada uno de ellos además de los diseños de experimentación.

En cada uno de los capítulos siguientes se abordan objetivos particulares de trabajo junto con las hipótesis correspondientes, de modo tal, que cada capítulo incluye una introducción, metodología, resultados y discusión.

En particular, en el Capítulo 4 se evalúa la influencia de la producción primaria, la biomasa de cada comunidad autotrófica, el caudal y el área relativa de la zona de retención transitoria en la retención de nutrientes en dos arroyos pampeanos con diferente estructura de las comunidades autotróficas a lo largo de un ciclo anual.

En el Capítulo 5 se evalúa la influencia de los procesos de captación abiótica de fosfato y amonio en el sedimento y la importancia relativa de dichos procesos en la retención de ambos nutrientes, así como la influencia de la captación autotrófica y heterotrófica por parte del epipelon sobre la retención de ambos nutrientes.

Finalmente, los resultados obtenidos en los capítulos 4 y 5 son integrados en una discusión general, en la cual se destacan las conclusiones principales de la tesis. Dichas consideraciones finales constituyen el Capítulo 6 de la presente tesis.

Capítulo 2-Ambiente y sitios de estudio

El trabajo de campo y el material colectado para las experiencias de laboratorio llevadas a cabo en la presente tesis fue realizado en un tramo de 30 m del arroyo Las Flores ($34^{\circ}27'35''\text{S}-59^{\circ}04'27''\text{W}$, Figura 2.1) y en un tramo de 50 m del Arroyo de la Cruz ($34^{\circ}24'51''\text{S}-59^{\circ}18'08''\text{W}$, Figura 2.2). Ambos son arroyos de segundo orden que se encuentran ubicados en el noreste de la Provincia de Buenos Aires y son considerados representativos de los arroyos de la Región Pampeana por sus características fisicoquímicas y biológicas (Feijoó y Lombardo 2007, Feijoó *et al.* 2011, Acuña *et al.* 2011, Leggieri *et al.* 2013). El Arroyo de la Cruz pertenece a la cuenca que lleva su mismo nombre (cuenca del Arroyo de la Cruz) mientras que el arroyo Las Flores pertenece a la cuenca del Río Luján. Ambas cuencas forman parte de la región hídrica superficial Cuencas del Noreste (Giraut *et al.* 2007).

El área de estudio se describe siguiendo tres niveles de detalle: una caracterización general de la región y sus arroyos, seguida de una breve caracterización de la cuenca del Río Luján y de la cuenca del Arroyo de la Cruz y, finalmente, una descripción de los sitios de muestreo.

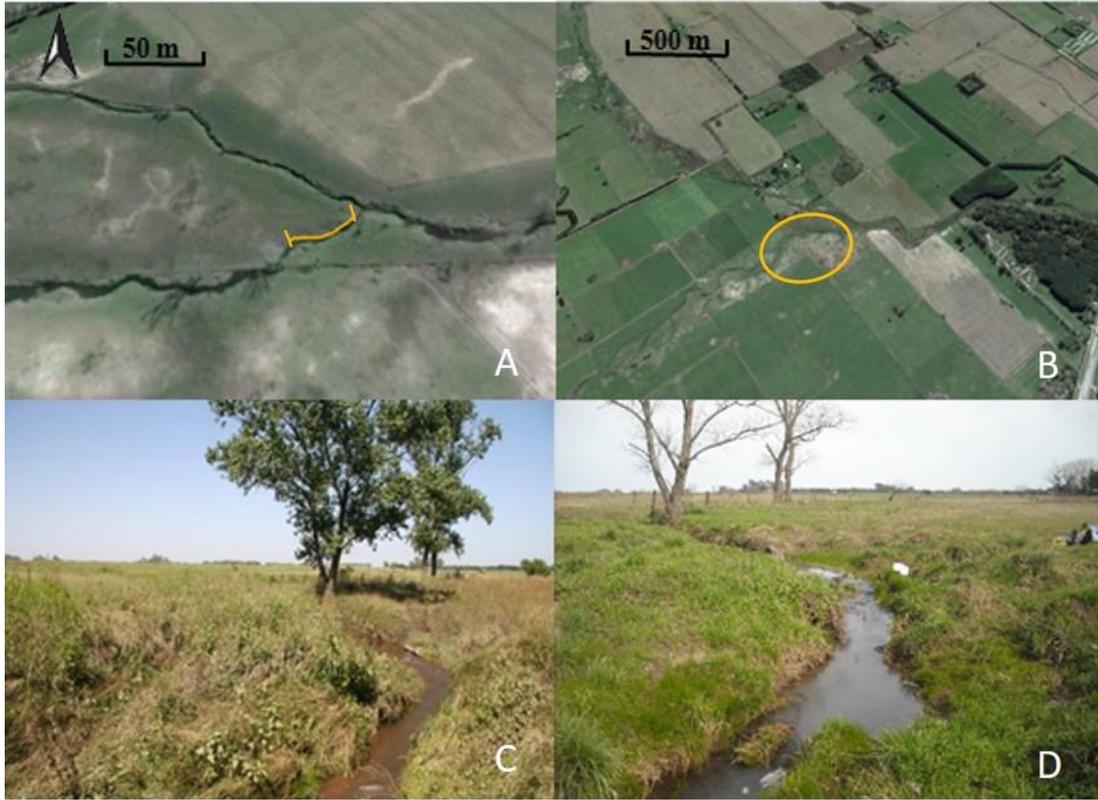


Figura 2.1. Imágenes satelitales y vistas generales del sitio de estudio del arroyo Las Flores. A. Imagen satelital del tramo de estudio del arroyo Las Flores (marcado en naranja). B. Imagen satelital del área de estudio con mayor escala. C. vista del sitio de estudio en primavera tardía. D. vista del sitio de estudio en invierno.



Figura 2.2. Imágenes satelitales y vistas generales del sitio de estudio del arroyo De la Cruz. A. Imagen satelital del tramo de estudio del Arroyo de la Cruz (marcado en azul). B. Imagen satelital del área de estudio con mayor escala. C. Vista del sitio de estudio en primavera tardía. D. Vista del sitio de estudio en invierno.

Ecorregión pampa

La Ecorregión pampa está ubicada en el centro Este de la Argentina, abarca una extensa planicie de unos 540.000 km² y, por su extensión, constituye el ecosistema de praderas más importante del país (Viglizzo 2006). Esta ecorregión ha sido subdividida, a su vez, en dos subregiones (La Pampa Húmeda y La Pampa Subhúmeda) sobre la base de las condiciones climáticas, especialmente la disponibilidad de humedad, y en 11 complejos, según el relieve, la topografía y los tipos de suelo (Matteucci 2012). Dentro de esta subdivisión, los arroyos estudiados en esta tesis pertenecen a cuencas ubicadas en la Subregión de la Pampa Húmeda y, en particular, al Complejo Pampa Ondulada.

Pampa Ondulada

Ubicación

Constituye una franja de 120-180 km de ancho que corre paralela al río Paraná desde el sur de la provincia de Santa Fe, atravesando el norte de la provincia de Buenos Aires hasta las localidades de Pipinas y Pila (aproximadamente) (Matteucci 2012) (Figura 2.3). Está comprendida entre las cuencas de los ríos Paraná y Salado y posee una extensión de 76.720 km². Sus cuencas drenan hacia el noreste y desembocan, tanto de forma directa como a través del Río Paraná de las Palmas, en el Río de la Plata (Sala y Auge 1970).

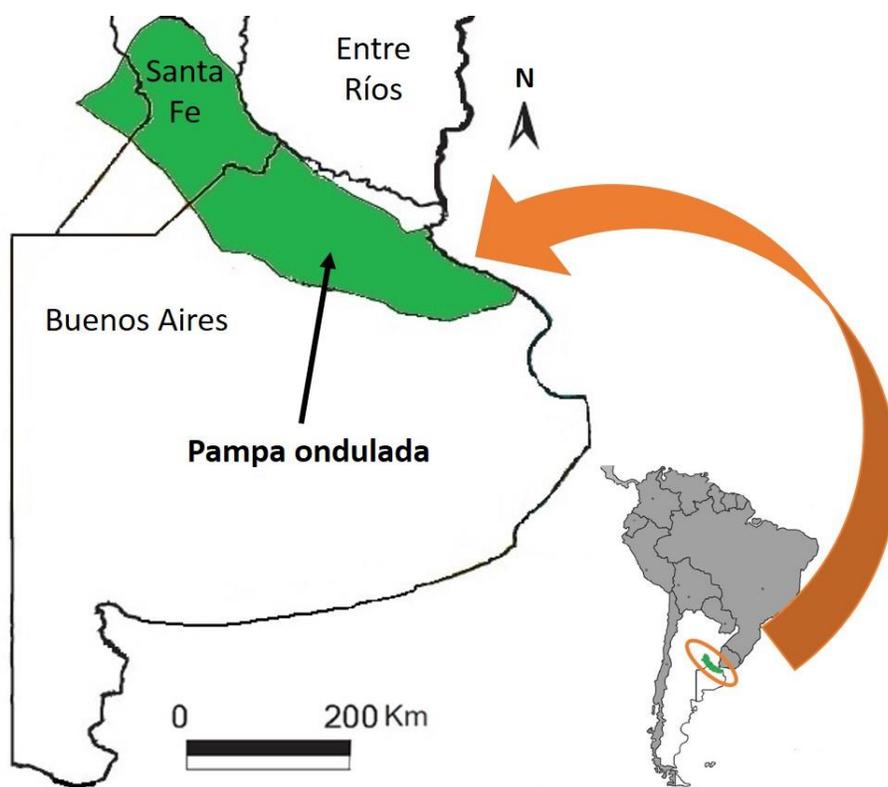


Figura 2.3. Ubicación geográfica del Complejo Pampa Ondulada (modificado de Viglizzo *et al.* 2006).

Clima

El clima de la región es templado, con lluvias durante todo el año, sin una estación seca marcada y con veranos cálidos. La temperatura media varía entre los 17-18 °C al norte

del Complejo y entre 14-15 °C al sur. Las temperaturas medias mensuales son de 20 °C en verano y de 12 °C en invierno. Las precipitaciones medias anuales varían entre 1000-1200 mm en el nordeste hasta 800-900 mm en el sudoeste siendo, a su vez, ligeramente mayores de otoño a verano e inferiores en invierno. Los períodos secos, que se producen principalmente en verano, poseen una magnitud y duración variable. La humedad relativa ambiental es superior a 70 % y la evapotranspiración potencial es de alrededor de 800 mm anuales (Soriano *et al.* 1992, Matteucci 2012).

Geomorfología y edafología

El relieve característico de la región es suavemente ondulado con la presencia de ríos, arroyos y cañadas que han sido excavados a partir del ascenso diferencial de los bloques de su basamento. Posteriormente, la erosión y sedimentación de loess pampeano determinaron la fisonomía típica del paisaje actual, la Planicie Loéssica (Sala y Auge 1970). Tectónicamente se corresponde a un bloque levantado con basamento cristalino no muy profundo que fue cubierto por sucesivos depósitos fluviales, eólicos y loéssicos ocurridos desde el Pleistoceno Superior. Morfogenéticamente es un área de disección, con una gruesa cobertura de sedimentos loéssicos cuya granulometría decrece de SO a NE (Matteucci 2012).

Los factores modeladores del terreno han sido, hasta el Holoceno, las ingresiones y regresiones marinas, la acumulación de depósitos de loess alternando con procesos de deflación eólica y la formación de suelos (Fucks y Deschamps 2008). Estos factores han interactuado generando unidades geomorfológicas agrupadas en planicies loéssicas, planicies fluviales, planicies poligenéticas del río de la Plata y de los ríos Matanza-Riachuelo, Luján y Reconquista y la barranca marginal (Pereyra 2004). Los elementos poseen un patrón repetitivo en el que predomina la alternancia de los interfluvios con los antiguos cauces colmatados. Los interfluvios se encuentran en una posición más alta y forman planicies loéssicas en lomadas, lo que da al terreno el relieve suavemente ondulado que caracteriza la región. Las lomadas son suaves y largas, separadas por una densa red de avenamiento con cursos de agua autóctonos que fluyen al río Paraná (alóctono). Las altitudes varían entre 5 y 50 m y el relieve relativo es bajo. Las pendientes no alcanzan el 2%, aunque localmente hay sectores en que llegan al 5%. Los paleovalles de los arroyos, y

ríos, anchos, chatos y con cursos zigzagueantes, no se corresponden con el escaso caudal actual. Fueron labrados en épocas geológicas pasadas en presencia de un clima húmedo y durante un movimiento de ascenso general (Matteucci 2012).

Los suelos predominantes en toda la Ecorregión Pampa son los Molisoles y dentro de ese orden, los Argiudoles son los más abundantes en la Pampa ondulada (Maccarini y Baleani 1995). Son suelos agrícolas que presentan un horizonte superficial rico en materia orgánica que, en tiempo geológico, se ha formado por la incorporación de residuos vegetales (especialmente gramíneas) y su mezcla con la fracción mineral, dando colores oscuros o pardos. Poseen una estructura granular moderada y fuerte que facilita el movimiento del agua y el aire. Son suelos fértiles con gran contenido orgánico, ricos en nutrientes, alto intercambio catiónico y retención de calcio, dominan las arcillas y tienen elevada saturación con bases (Papadakis 1980, Feijoó *et al.* 1999, Matteucci 2012).

El loess se encuentra sobre un antiguo basamento cristalino compuesto por rocas ígneas y metamórficas. Por encima de este basamento se encuentran sedimentos terciarios e incluyen una capa superior de arena que contiene el acuífero Puelche - la principal fuente de agua en la mayoría de las ciudades (Sala *et al.* 1983). Las arenas del Puelche se extienden en forma continua cubriendo cerca de 92.000 km² desde una línea paralela y al sur del río Salado y tiene entre 20 a 60 m de espesor. Es el acuífero principal de la Ecorregión Pampa tanto por su calidad como por su productividad. Se recarga en las áreas interfluviales que separan el drenaje hacia la cuenca del río Salado de los tributarios del sistema Paraná-de la Plata (Matteucci 2012).

Los sedimentos cuaternarios antiguos ('Pampeano') que se acumularon por acción aluvial y eólica, permitieron el establecimiento de la estepa herbácea que cubre la llanura pampeana. Esta capa incluye material volcánico transportado desde los Andes. Los últimos sedimentos ('Postpampeano') son limos ricos en sulfato y cloruro con depósitos de carbonato de calcio. Estos sedimentos de origen fluvial y eólico forman el lecho de los arroyos y ríos, e incluyen el acuífero superior (Sala *et al.* 1983).

Flora y fauna

La vegetación natural predominante es el pastizal, actualmente convertido, en gran parte, a cultivos. También pueden encontrarse parches de neocosistemas formados por

especies leñosas exóticas acompañadas por arbustos, hierbas y gramíneas nativas (Matteucci 2012). Con la excepción de dos especies de árboles (*Celtis tala* Gill ex Planch y *Salix humboldtiana* Willd.) que se desarrollan aislados en zonas con condiciones de suelo particulares, las plantas perennes naturales están ausentes en la región (Giorgi *et al.* 2005). En condiciones naturales, la región se encuentra cubierta por pastizales, con hierbas anuales adaptadas a la aparición de incendios en verano y a heladas en invierno (Feijoó y Lombardo 2007). En general, los pastizales tienen alta cobertura (entre 90 y 100%), los ejemplares más altos de pastos tienen de 50 a 100cm y el pastizal puede ser pluriestratificado. La composición de especies varía según las estaciones del año con recambio de especies invernales y estivales (Matteucci y Falcón 2011).

Cabrera (1978) describe el paisaje original de la región pampeana como una llanura en la que dominaban gramíneas de distinto porte con elementos aislados del espinal, principalmente en un cordón paralelo a la costa del Río de la Plata que se internaba, en ocasiones, varios kilómetros tierra adentro. Las praderas estuvieron originalmente dominadas por gramíneas, entre las que predominaron los géneros *Stipa*, *Poa*, *Piptochaetium* y *Aristida* (Viglizzo 2006). Sin embargo, la agricultura ha eliminado la mayor parte de los pastizales, de los cuales quedan pocos relictos (Matteucci 2012). Hoy en día, la mayor parte de estos relictos son las riberas de los arroyos (Szpeiner *et al.* 2007).

Aunque disminuida en la actualidad, la fauna nativa de la pradera pampeana incluía abundantes mamíferos y aves (Krapovickas y Di Giacomo 1998, Real *et al.* 2003). Entre ellos se pueden mencionar especies como el venado de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus*), el ñandú (*Rhea americana*), las perdices (*Rynchotus rufescens*, *Nothura* sp., *Eudromia elegans*) y el “puma” (*Puma concolor*). De las cuatrocientas tres especies de aves registradas en la región, unas trescientas habitan regularmente en las Pampas (Viglizzo 2006).

Potencial natural de producción y problemática

El complejo Pampa Ondulada posee los mejores suelos agrícolas de la Ecorregión. El clima favorable, atemperado por la presencia de grandes ríos y la disponibilidad del acuífero Puelches, permite realizar dos cultivos anuales. El potencial natural es netamente agropecuario (Pizarro 1997). Sin embargo, la desaparición de la rotación agrícola ganadera

ha contribuido notablemente al deterioro de la fertilidad de los suelos (Morello y Matteucci 1997). En una gran parte de la región, la cría extensiva de ganado y la producción de cultivos se combinan en diferentes proporciones en función de su susceptibilidad a las limitaciones ambientales. Las actividades industriales, por su lado, se encuentran limitadas a las grandes ciudades (Viglizzo *et al.* 2001, Feijoó y Lombardo 2007).

Hasta principios de la década de 1990 prevaleció en la región un esquema de agricultura con bajos insumos externos (Viglizzo *et al.* 2001). Para el año 2002, los principales cultivos de la provincia de Buenos Aires eran el trigo y la soja (39 y 25,4% de toda la superficie cultivada, respectivamente) y la ganadería era principalmente extensiva (FAO, 2004). Sin embargo, en las últimas dos décadas, se está produciendo un proceso de intensificación de la agricultura con el reemplazo del sistema mixto agrícola-ganadero por un sistema de cultivo continuo (Viglizzo *et al.* 2003, Amuchástegui *et al.* 2016). La llamada “segunda revolución verde”, de la mano de la soja transgénica y el paquete tecnológico que la acompaña, ha traído aparejada la desaparición casi total de la ganadería de la Pampa Ondulada, la agricultura industrial en grandes extensiones y el monocultivo de soja junto con el uso intensivo de herbicidas (Matteucci 2012), generando en la región y, particularmente en sus arroyos, un notable deterioro físico y químico a consecuencia de esta intensificación.

Los arroyos pampeanos

Los arroyos pampeanos se originan en depresiones pequeñas y poco profundas con plantas emergentes como *Juncus* sp. o *Typha latifolia*, que también pueden encontrarse a lo largo de sus cursos medios. Se alimentan principalmente por la escorrentía subterránea local y corren a lo largo de una región tradicionalmente agrícola. Sin embargo, en las zonas más urbanas también reciben un gran suministro de contaminantes a través de efluentes industriales y domésticos. A pesar de que poseen sus propias particularidades, estos arroyos tienen características que los hacen similares a arroyos de pradera descritos por Wiley *et al.* (1990).

A lo largo de su recorrido atraviesan pendientes suaves, lo que genera que las velocidades de corriente sean lentas (raramente superiores a 0,5 m/s). También se

caracterizan por poseer altos niveles de nutrientes, altas concentraciones de oxígeno disuelto y aguas alcalinas con altas conductividades.

Según los criterios de EPA (2000) pueden ser clasificados como eutróficos si se consideran las concentraciones de fósforo reactivo soluble y como meso-eutróficos si es el nitrógeno el que se toma en cuenta (Feijóo y Lombardo 2007).

Los altos niveles de fosfato que poseen no pueden asociarse únicamente a la utilización del suelo para actividades agrícolas sino que también pueden estar relacionados con la meteorización del material volcánico rico en fósforo transportado desde los Andes y depositado en la región durante el Cuaternario (Sala *et al.* 1983, Morrás 1993, Amuchástegui *et al.* 2016). Comparativamente, los niveles de nitrógeno parecen no ser tan altos como cabría esperar a causa de la extensión de las actividades agrícolas en la región (Mugni *et al.* 2005, Feijoo y Lombardo 2007). Se ha propuesto que esto puede deberse a bajas cargas de fertilización en la región si se las compara con las de América del Norte y Europa (Viglizzo *et al.* 2001, 2003, Feijoo *et al.* 2007).

El lecho de los arroyos está formado por un sustrato duro y homogéneo con sedimentos finos (principalmente limo y arcilla), alto contenido de carbonato de calcio y una ausencia total de piedras o guijarros. La heterogeneidad del hábitat en los arroyos pampeanos no es el resultado de diferentes tipos y tamaños de sustratos sino de la vegetación sumergida, que juega un importante papel estructurante en estos sistemas (Giorgi *et al.* 2005, Ferreiro *et al.* 2011).

Debido a la falta de bosques de ribera en sus cabeceras, la irradiación solar alcanza fácilmente el fondo de los arroyos. A su vez, la presencia de vegetación herbácea proporciona bajos insumos de materia orgánica alóctona que, junto con la alta irradiación, permite el desarrollo de densas comunidades de macrófitas y de algas epifitas que crecen asociadas, o en el fondo, en las zonas donde las macrófitas no han colonizado (Feijóo *et al.* 1999, Giorgi *et al.* 2005).

Compartimentos basales de los arroyos pampeanos

Los arroyos de llanura poseen un conjunto de comunidades biológicas que se mantienen a partir de un continuo flujo de energía solar, que es aprovechada mediante los procesos de fotosíntesis y respiración y es utilizada para generar y sostener estructuras

complejas. Las comunidades de productores pueden llegar a regular el funcionamiento del resto ya que son las primeras en aprovechar la energía incidente. Entre los productores predominan las macrófitas debido a su gran tamaño y la escasez de consumidores directos; lo que les permite desarrollarse y modular o controlar el crecimiento de los otros productores: epipelon, epifiton y seston (Giorgi 1998).

Perifiton

El perifiton es un término muy amplio que se aplica al conjunto de microorganismos que crecen adheridos o que se desarrolla sobre sustratos vivos o muertos de diferente naturaleza (ya sea la superficie de plantas, animales u objetos inanimados sumergidos) y suele estar compuesto por microalgas, bacterias, hongos y protozoos. A pesar de ser una palabra etimológicamente imprecisa, es un término tan arraigado en limnología que su uso ha sido internacionalmente aceptado (cf. Wetzel 1983). Por otro lado, el término biofilm se utiliza con mayor frecuencia en aplicaciones de ingeniería y, a menudo, se refiere a las comunidades bacterianas heterótroficas adheridas. Sin embargo, esencialmente es un sinónimo de perifiton. Por lo tanto, en la presente tesis este término es utilizado con esta última acepción.

Una manera mucho más explícita de referirse a los organismos es a través de modificadores apropiados que describen los sustratos sobre los que crecen en sus hábitats naturales. De esta manera, se pueden diferenciar al epipelon, que se desarrolla sobre los sedimentos (finos, orgánicos); al epifiton, que crece sobre las superficies de las macrófitas y al epilimon, que habita sobre sustratos pétreos (Ringuelet 1962, Wetzel 2001, Leggeri 2014).

a) Epipelon

Las comunidades bentónicas se desarrollan sobre el típico sustrato limo arcilloso siendo los 5-10 mm el límite de profundidad por debajo de la superficie del sustrato hasta dónde habitualmente se considera al epipelon. Por debajo de esta profundidad ya no se observa actividad autotrófica (Gómez *et al.* 2009, Leggeri 2014).

En la mayoría de los arroyos pampeanos, cuya profundidad es generalmente menor a un metro, puede observarse en el fondo una amplia y heterogénea colonización de algas fijas a irregularidades del lecho, a plantas o a cualquier objeto sumergido (Giorgi 1998). La mayoría de las algas del epipelon pertenecen a la subclase Bacillariophyceae y junto con las cianobacterias aparecen regularmente durante todo el año aunque la composición y dominancia de especies suele ser variable (Giorgi 1998, Sierra y Gómez 2007, Vilches 2012). Los géneros más representados de cianobacterias son *Oscillatoria* y *Lyngbya*. Las clorofíceas suelen ser escasas aunque dos géneros llegan a tener abundancias importantes: *Cladophora* y *Spirogyra* (Giorgi 1998).

Los grupos heterotróficos del epipelon están representados por protozoos, nematodos, amebas y bacterias (Sierra y Gómez 2007).

b) Epifiton

En el epifiton los grupos heterotróficos que predominan son los ciliados sésiles y las amebas (Giorgi 1998) y los autotróficos son, al igual que en el epipelon, principalmente diatomeas y cianobacterias (Sierra y Gómez 2007, Vilches 2012).

Tanto en el epifiton como en el epipelon se ha observado una dominancia de diatomeas en todas las estaciones del año, pero durante el verano, la proporción de cianobacterias filamentosas aumenta considerablemente (Giorgi 1998, Vilches 2012). Esto podría explicarse por su mayor tolerancia a las altas temperaturas y a las radiaciones en comparación con las algas (Wetzel 2001, Leggieri 2014).

Macrófitas

El término macrófitas acuáticas es comúnmente utilizado para referirse a las formas macroscópicas de vegetación acuática, incluidas las algas filamentosas (ej. *Cladophora*), las pocas especies de musgos y helechos adaptados al hábitat acuático como así también las verdaderas angiospermas. Si bien esta división en base al tamaño es completamente arbitraria, combinada con la definición de la microflora adherida al sustrato permite una significativa separación de los productores primarios (Wetzel 2001). Es por eso que, para el presente trabajo se ha adoptado este criterio de clasificación.

En los arroyos de la Pampa Ondulada se han registrado más de 20 especies de macrófitas (Gantes y Sánchez Caro 2001; Feijoó y Lombardo 2007) siendo *Stuckenia striata* la especie de macrófita vascular más abundante y más frecuente (Ranieri 2015). Dentro de los arroyos de la cuenca del río Luján, pueden mencionarse como las sumergidas más frecuentes a *Egeria densa* (25 %), *Cladophora* sp. (14 %) y *Spyrogyra* sp. (14 %) y a *Rorippa nasturtium* (16 %), *Hydrocotyle ranunculoides* (15 %) y *Ludwigia peploides* (7 %) como las emergentes más frecuentes (Gantes y Sánchez Caro 2001, Leggieri 2014).

Metafiton

El metafiton es un grupo de algas y cianobacterias libremente agregadas que no están estrictamente adheridas al sustrato ni verdaderamente suspendidas y se encuentran en las zonas litorales de los lagos o en las zonas someras de los ríos debido al movimiento del agua. Normalmente, se originan a partir de la fragmentación de comunidades epifíticas que se agrupan formando matas muy densas que, a su vez, pueden formar acumulaciones microbiales con un intenso reciclado de nutrientes interno. La producción y el metabolismo colectivo del metafiton puede ser muy alto y alterar radicalmente el ciclo de nutrientes (Wetzel 2001).

A la hora de evaluar el metabolismo y biomasa de los compartimentos basales, hemos diferenciado a las macrófitas vasculares del conjunto de estas densas matas macroscópicas de algas filamentosas que, ocasionalmente, pueden desarrollarse en los arroyos pampeanos. Para mencionar a este compartimento estudiado, nos referiremos con el término de metafiton y utilizaremos el término macrófitas para referirnos a las macrófitas vasculares propiamente dichas.

Tanto las macrófitas flotantes como las sumergidas suelen ser muy frecuentes en los arroyos y su metabolismo contribuye considerablemente al ecosistema. Por el contrario, las macrófitas emergentes -como *Scirpus*, *Typha*, *Juncus*- que intercambian los gases directamente con el aire, contribuyen escasamente al metabolismo de un arroyo e incorporan nutrientes del sustrato afectando muy poco la disponibilidad de los mismos en la columna de agua (Wetzel 2001). Es por ello que las macrófitas emergentes no fueron consideradas al momento de medir el metabolismo en este estudio.

Seston

El seston es el conjunto de material particulado fino (de 0,45 a 1000 μm) suspendido en la columna de agua, constituido por microorganismos (bacterias, algas, protozoos, invertebrados, etc.) y por material no vivo (materia orgánica amorfa, detritos y sedimentos inorgánicos) (Wetzel 2001).

Los componentes abióticos del seston, como limos en suspensión o materia orgánica de los organismos del cauce o de la ribera, son principalmente autóctonos debido a que los escasos árboles y arbustos ribereños contribuyen con muy poca materia orgánica alóctona. Los componentes bióticos autótrofos incluyen diatomeas y cianobacterias, desprendidas de las comunidades perifíticas a causa de la abrasión de la corriente o liberadas como estrategia de dispersión (Giorgi y Feijoó 1999). Dentro de la componente heterotrófica, las bacterias suelen ser abundantes (Cochero y Gómez 2008).

Las componentes del seston permanecen como plancton por trayectos cortos a lo largo de los arroyos; no habiéndose identificado especies permanentemente planctónicas (Giorgi y Feijoó 1999). En los arroyos pampeanos, el seston tiene muy poco desarrollo debido a que el arrastre generado por la corriente y la escasa profundidad de estos cuerpos de agua, no permiten mantener una columna de agua con estabilidad suficiente para su adecuado desarrollo (Vilches 2005). Es por esto que a la hora de calcular el metabolismo de los compartimentos basales esta comunidad fue evaluada sólo con el objetivo de descontarlo de las medidas obtenidas para los demás compartimentos, dado que todas las cámaras se llenaron con agua de arroyo.

Hidrología

Debido a la relativa homogeneidad de muchas características de la región pampeana se hace difícil proponer una regionalización de los ambientes lóticos. Sin embargo, el conjunto de arroyos de la provincia conforma una red hídrica con características geológicas, geomorfológicas y climáticas que permiten delimitar regiones hidrogeológicas. En 1956, Frengüelli propuso una de las primeras clasificaciones de los arroyos de la provincia de Buenos Aires. Esta clasificación, basada en la geomorfología y las características hidrológicas de los cuerpos de agua divide a los sistemas fluviales en 4 regiones. El primer sistema comprende al Río Salado y sus afluentes; el segundo es el

sistema del arroyo Vallimanca; el tercero corresponde a los tributarios del Río Paraná y del Río de la Plata y el cuarto está compuesto por los tributarios directos del Océano Atlántico (Figura 2.4A). Si bien el autor no tuvo en cuenta la litología parental, el gradiente de precipitación de oeste a este, o el tipo de suelo para llevar a cabo su clasificación, la misma ha sido revisada y actualizada en diferentes aspectos por otros autores como Ringuelet (1962), Sala *et al.* (1983), Gómez y Toresani (1999) y Viglizzo *et al.* (2006) y todos han coincidido con los límites de la división propuesta originalmente por Frengüelli (1956). Así mismo, también ha sido observado que las cuatro regiones se pueden diferenciar utilizando criterios químicos (Feijoó y Lombardo 2007).

A partir de la Base de Datos Gráfica del Sistema Nacional de Información Hídrica, Giraut *et al.* (2007) generaron la cartografía hídrica superficial digital del territorio nacional a escala 1:500.000. En base a este estudio, la provincia puede dividirse en 11 regiones hídricas superficiales que se enumeran a continuación: I Delta del Paraná, II Noreste, III Río Salado, IV Noroeste, V Atlántica oriental, VI Médanos costeros sin drenaje definido, VII Laguna Mar Chiquita, VIII Atlántica austral, IX Bahía Blanca, X Endorreica del SO y XI Norpatagónica (Figura 2.4B). Las cuencas de las que forman parte los arroyos estudiados en la presente tesis integran parte de la región hídrica Noreste según Giraut *et al.* (2007) y de la región de los tributarios del Río Paraná y del Río de la Plata según la clasificación propuesta por Frengüelli (1956).

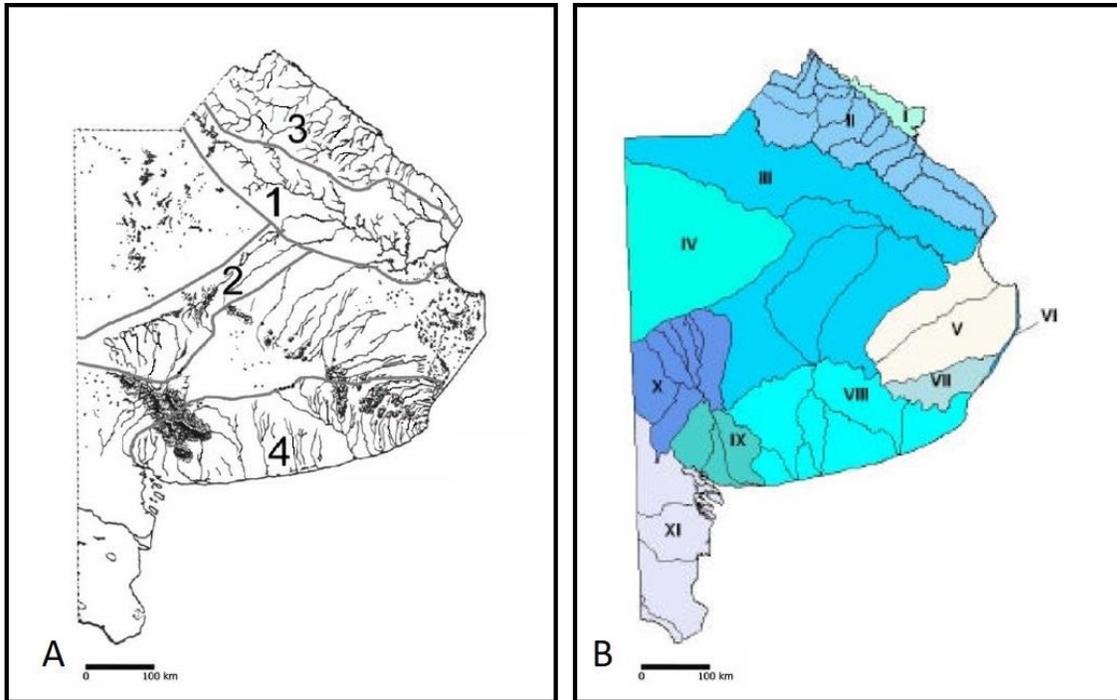


Figura 2.4. A. Esquema de la provincia de Buenos Aires con la clasificación de los arroyos propuesta por Frengüelli (1956). 1) Río Salado y sus afluentes; 2) Sistema del arroyo Vallimanca; 3) Tributarios del Río Paraná y del Río de la Plata y 4) Tributarios directos del Océano Atlántico. B. Regiones hídricas superficiales de la provincia de Buenos Aires propuesta por Giraut *et al.* 2007. I Delta del Paraná, II Noreste, III Río Salado, IV Noroeste, V Atlántica oriental, VI Médanos costeros sin drenaje definido, VII Laguna Mar Chiquita, VIII Atlántica austral, IX Bahía Blanca, X Endorreica del SO y XI Norpatagónica.

Región hídrica del Noreste

Abarca una superficie de 34976 km². Los principales cursos de agua que forman la cuenca son el Río Areco, el Arroyo de la Cruz, el Río Luján y el Río Reconquista. Todos desembocan en el Paraná de las Palmas que, a su vez, desemboca en el Río de la Plata.

El noreste de la provincia de Buenos Aires se caracteriza por presentar una red de drenaje más desarrollada que el resto de la llanura pampeana, con cauces más definidos y un predominio de los cuerpos de agua lóticos sobre los lénticos (Sala *et al.* 1983).

a) Cuenca del Arroyo de la Cruz

La cuenca del Arroyo de la Cruz está ubicada en el noreste de la provincia de Buenos Aires. Los límites hidrográficos de la cuenca son: la cuenca del río Areco (al NO) y la cuenca del Río Luján (al SE) (Figura 2.5). Si bien el cuerpo de agua principal que la

compone se denomina “arroyo”, es considerada una cuenca debido a su gran extensión, su gran cantidad de tributarios y a que desemboca directamente en el Río Paraná (Ranieri 2015). La cuenca atraviesa parte de los partidos de San Andrés de Giles, Exaltación de la Cruz, Campana y Zárate y desemboca en el río Paraná a unos 60 km del Río de La Plata, en el partido de Zarate.

b) Cuenca del Río Luján

La Cuenca del río Luján está situada al noreste de la Provincia de Buenos Aires y forma parte de la Cuenca del Plata, comprendida dentro de la Región Metropolitana de Buenos Aires. Abarca una superficie total de 3295 km² y atraviesa 9 partidos (Chivilcoy, Mercedes, Luján, Pilar, Exaltación de la Cruz, Campana, Escobar, Tigre y San Fernando) con una población de más de 1.000.000 de habitantes. Los límites hidrográficos de la cuenca son: la cuenca del Arroyo de la Cruz y la cuenca del Río Areco (al NO), la cuenca del Río Salado (al S) y la cuenca del Río Reconquista (al SO) (Figura 2.5). La red de drenaje de la cuenca muestra un patrón rectangular, haciéndose dendrítico hacia el oeste, con una pendiente media de 1,56 m/km (Sala 1972).

El Río Luján nace en la confluencia de los arroyos Los Leones y Del Durazno en el partido de Suipacha, se une al delta del Río Paraná y desemboca en el Río de la Plata (Andrade 1986). La longitud del río es de 128 km siendo la longitud total de cauces de la cuenca de 450 km (Andrade 1986). Sala (1972) divide al río en tres tramos: uno superior de 40 km; uno medio de 30 km y uno inferior de 60 km de longitud. El curso superior presenta un drenaje de escasa difusión, recibe los afluentes de mayor caudal y recorre un área de escasa pendiente (pendiente media de 0,40 m/km). El curso medio se extiende sobre un relieve más acentuado que el resto del área, observándose una pendiente media de 0,83 m/km. El drenaje en esta área es muy activo, presentándose una red de cursos secundarios, en general intermitentes, que drena a través del curso principal. El curso inferior es el que presenta la menor pendiente (de 0,16 a 0,05 m/km) tanto en el cauce principal como en sus afluentes (Andrade 1986). El régimen hidrológico del sector superior y medio está controlado por lluvias y por filtración subterránea; mientras que el sector inferior está influenciado por el Río Paraná y los regímenes de marea del Río de la Plata. En este sector, el río pierde los atributos típicos de río de llanura y entra a un sistema deltaico, de dinámica

compleja, perteneciente a la cuenca del Río Paraná (Guichón *et al.* 1999). El caudal medio del río es de 5,4 m³/s, promediando 39,4 m³/s en la cuenca media (Andrade 1986).

Tradicionalmente, la agricultura y la ganadería extensivas son las actividades que predominan en la zona. Sin embargo, gran parte de la cuenca media y baja del río Luján está ubicada en partidos del tercer cordón del Conurbano Bonaerense (Pilar, Escobar), donde la actividad industrial y la densidad poblacional han experimentado un importante crecimiento durante los últimos años (Ferreiro 2012).

Sitios de estudio

Arroyo Las Flores

El arroyo Las Flores es tributario del río Luján por su margen norte a la altura de su cuenca media. Se encuentra ubicado entre las localidades de Los Cardales (34° 29'S y 59° 7'O) y Manzanares (34° 28'S y 58° O), aproximadamente a unos 20 km de la ciudad de Luján y se inicia a partir del desagüe de un bañado. Su longitud total es de 12 km, su ancho varía entre 0,5 y 11 m, y su profundidad entre 9 y 100 cm, aproximadamente. Si bien posee características geomorfológicas similares a otros arroyos de la cuenca, su pH es menos alcalino y la conductividad es menor al promedio. En contraste, el material particulado en suspensión y la materia orgánica particulada son superiores a la media y es, a su vez, uno de los arroyos con más alto contenido natural de nutrientes (fósforo y nitrógeno) dentro de toda la cuenca (Feijoó *et al.* 1999).

Si bien la actividad principal que se desarrolla en torno a la cuenca es la agricultura (alrededor del 77 % del área), recibe poco impacto antrópico y, cerca de la cabecera, aún prevalece vegetación natural. A lo largo de la cuenca también se desarrollan otras actividades como la cría de ganado y la actividad forestal (Amuchastegui 2006).

Arroyo de la Cruz

El Arroyo de la Cruz es el principal cuerpo de agua que compone la cuenca que también lleva su nombre. Nace como la continuación del Arroyo El Sauce a partir de la localidad de Villa Ruiz y desemboca en el río Paraná a la altura del partido de Zarate, a unos 60 km del Río de La Plata. A lo largo de su recorrido, las principales localidades que

atraviesa son Villa Ruiz, Capilla del Señor, y Campana. Al igual que muchos arroyos de la llanura pampeana se caracteriza por la baja profundidad de sus aguas y por poseer elevada conductividad y concentraciones de nutrientes así como un pH levemente alcalino (Ranieri 2015, Rodríguez Castro 2015).

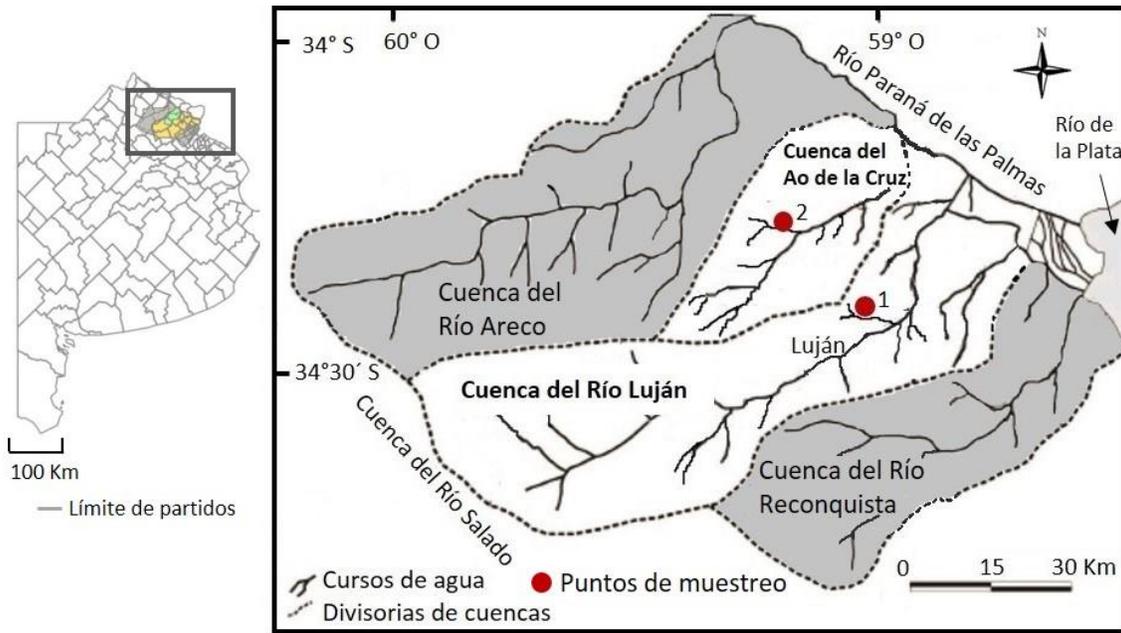


Figura 2.5. Esquema de la ubicación de las cuencas del Río Luján y del Arroyo (Ao) de la Cruz dentro de la divisoria de partidos de la provincia de Buenos Aires y detalle de los principales afluentes y los límites hidrográficos de las cuencas. Los puntos rojos indican la ubicación de los sitios de muestreo: 1) Tramo del arroyo Las Flores, 2) Tramo del Arroyo de la Cruz (modificado de Blasi *et al.* 2010).

Capítulo 3-Metodología

En este capítulo se presentan y describen en detalle las técnicas generales que se utilizaron tanto en los muestreos de campo como en los ensayos de laboratorio. En los siguientes capítulos se mencionarán las técnicas utilizadas particularmente en cada uno de ellos además de los diseños experimentales.

Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros del agua mencionados a continuación se midieron en los arroyos a campo como en los arroyos artificiales, sumergiendo los sensores en una zona central de los mismos.

Temperatura

Se expresa en °C. Se utilizó un termómetro digital incorporado al oxímetro (multisonda portátil HQ40d, HACH Company, Loveland, Colorado, USA) con $\pm 0,1$ °C de precisión.

pH

Se midió con un una sonda multiparamétrica portátil HQ40d (HACH Company, Loveland, Colorado, USA) con sensibilidad $\pm 0,01$.

Conductividad

Se registró con conductímetro portátil WTW modelo 3310 con data logger, conectado a una sonda TetraCon 325, (WTW, Weilheim, Alemania) con una sensibilidad de $\pm 0,1$. Se expresa en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Oxígeno disuelto

Se midió con una multisonda portátil HQ40d HACH Company, Loveland, Colorado, USA). Se expresa en mg/L. Sensibilidad $\pm 0,1$. En la misma medición también se registró el porcentaje de saturación de oxígeno y la presión atmosférica (expresada en hPa).

Se midieron en el laboratorio los siguientes parámetros del agua a partir de la toma de muestras tanto en el campo como en los arroyos artificiales. Las muestras se filtraron con filtros de fibra de vidrio Munkell® GF/F, 0,7 µm de poro (similares a Whatman® GF/F). Para todos los métodos colorimétricos la absorbancia propia de la muestra se descontó en la expresión final de los resultados. Para las curvas de calibración y diluciones se utilizó agua milliQ.

Fosfatos

Se utilizó el método del ácido ascórbico (APHA 2005). Este método estima el Fósforo Reactivo Soluble (PRS) y se basa en la determinación colorimétrica de un complejo fosfomolibdico que, al ser reducido por el ácido ascórbico, produce una coloración azul. La absorbancia se determinó con un espectrofotómetro Shimatzu UV-1800 a una longitud de onda de 880nm. Se expresa en mg PRS/L.

Amonio

Se estimó por el método del indofenol (APHA 2005). Este compuesto coloreado se forma por la reacción, catalizada por una sal manganosa, de amonio con hipoclorito de sodio y fenol en medio alcalino. La absorbancia se determinó con un espectrofotómetro Shimatzu UV-1800 a una longitud de onda de 630 nm. Se expresa en mg N-NH₄⁺/L.

Nitritos

Se realizó por el método de Shinn (APHA 2005) con sulfanilamida en medio ácido. Este reactivo forma con los nitritos del agua un compuesto complejo que se colorea al agregarle N (1-naftil) etilendiamina. La determinación de las muestras se llevó a cabo utilizando un autoanalizador FUTURA (Alliance Instruments, Frepillon, France) y la absorbancia se determinó a una longitud de onda de 543nm. Se expresa en mg N-NO₂⁻/L.

Nitratos

Su estimación se realizó a través del método de la columna reductora (APHA 2005) que consiste en estimar inicialmente la cantidad de nitritos de una muestra según el método de Shinn, para luego reducir los nitratos presentes en la muestra haciéndola pasar a través

de una columna con limaduras de cadmio recubiertas de cobre metálico. La determinación de las muestras se llevó a cabo utilizando un autoanalizador FUTURA (Alliance Instruments, Frepillon, France) y la absorbancia se determinó a una longitud de onda de 543nm. Se expresa en mg N-NO₃⁻/L.

Fósforo total (PT) en sedimento

Se estimó mediante el método de digestión con ácido clorhídrico y posterior determinación de PRS (Andersen, 1976). La técnica consiste en digerir completamente el material en una solución oxidante y luego estimar los fosfatos por el método del ácido ascórbico (descrito más arriba). Se expresa en mg PT/g de sedimento.

Nitrógeno total (NT) en sedimento

Se determinó por técnica de semi-micro-kjeldahl (APHA 2005) que consiste en digerir completamente el material en una solución reductora para luego estimar el amonio resultante por el método descrito más arriba. Se expresa en mg NT/g de sedimento.

Granulometría

Se determinó por el Método de Bouyoucos. Este método consiste en la determinación de los porcentajes de arena, limo y arcilla presentes en la fracción mineral de las muestras de suelo. Estos porcentajes se obtienen mediante la separación de las partículas a partir de una suspensión de sedimento colocada en una probeta de sedimentación. La densidad se determina mediante el uso de un hidrómetro de Bouyoucos, graduado para leer en g/L. Refiriendo las lecturas del hidrómetro con los pesos de sedimento tomados para el análisis se calculan los porcentajes por peso de limo más arcilla, de arcilla, y de limo y arena (estos últimos, generalmente, por diferencia). En función de los porcentajes se determina la clasificación textural del sedimento (Bouyoucos 1962).

Medición de la espiral de nutrientes

Para la medición de la espiral de nutrientes en los arroyos seleccionados, se optó por la realización de adiciones instantáneas. Esta metodología es la más aconsejable cuando se

trabaja en sistemas fluviales con altas concentraciones de nutrientes y baja velocidad de corriente (Wilcock *et al.* 2002, Ruggiero *et al.* 2006, Martí y Sabater 2009, Covino *et al.* 2010), como es el caso de los arroyos pampeanos (Feijoó y Lombardo 2007). Esto se debe a que la cantidad de solución necesaria para llegar a condiciones de meseta, si se utiliza una adición en continuo, la vuelve impracticable. La técnica de adición instantánea consiste en el agregado de un pequeño volumen conocido de una solución de nutrientes junto con un trazador hidrológico en un punto del arroyo bajo estudio y el seguimiento de la pluma de nutrientes que se genera aguas abajo a una distancia conocida del punto de adición (Martí y Sabater 2009).

Para llevar a cabo las adiciones realizadas en esta tesis, el tramo seleccionado en cada arroyo estudiado fue elegido de modo tal que fuera representativo de las características morfológicas del arroyo y sin entradas laterales (Stream Solute Workshop 1990). La longitud de los tramos fue relativamente corta, 30 m para el arroyo Las Flores (LF) y 50 m para De la Cruz (DLC), debido a las bajas velocidades de corriente que presentan estos sistemas (Francesc Sabater, comunicación personal). En general, los tramos elegidos deben ser suficientemente largos para detectar las variaciones longitudinales, pero suficientemente cortos para evitar posibles entradas laterales o verticales de agua (Martí y Sabater 2009).

En cada experimento de adición se seleccionaron dos estaciones de muestreo: una al comienzo del tramo y otra al final del mismo. Al comenzar el experimento, se volcó, en el inicio del tramo, una solución de 2 L con una concentración conocida de fosfato como HK_2PO_4 , de amonio como NH_4Cl y de un trazador conservativo (cloruro de sodio, NaCl). Para preparar dicha solución se utilizó agua destilada y se ajustó la concentración de nutrientes presente de manera que la concentración generada en el sistema, en cada fecha de muestreo, estuviera siempre dentro del rango natural observado en los arroyos ($0,1-1,5$ mg/L P-PO_4^{-3} y $0,01-0,6$ mg/L N-NH_4^+) (Feijoó *et al.* 2011) y respetando la estequiometría preexistente en el agua (Martí y Sabater 2009).

La cantidad de reactivo a añadir se estimó a partir de una adición previa de una solución compuesta sólo por NaCl . Esto permitió evaluar el factor de dilución en el punto final del tramo midiendo la concentración del soluto respecto al tiempo (o la conductividad en el caso del NaCl). A partir de esta curva, y conociendo la concentración basal de

nutrientes, se recalculó la curva teórica de aumento del soluto en el tiempo a partir de un balance de masas (ver más adelante), de manera de obtener el incremento máximo deseado en la concentración de nutrientes en el punto final del tramo a estudiar.

Los cambios en la concentración de nutrientes a lo largo del tramo (corregidos por la concentración basal) se producen tanto por causa de factores físicos (dilución) y químicos (precipitación, floculación, adsorción) como biológicos (asimilación, nitrificación, desnitrificación). Por otro lado, los cambios en la concentración del trazador hidrológico se deben exclusivamente a factores físicos. Es por esto que los datos del trazador conservativo se utilizan para corregir el efecto de dilución sobre la concentración de nutrientes y cuantificar, de esta manera, la tasa de cambio asociada sólo a los procesos de retención bióticos y/o químicos (Martí y Sabater 2009).

La adición de sal previa a cada experimento también permitió ajustar el intervalo de tiempo para la toma de muestras de agua, en función del pico observado, de manera de obtener la mejor representación de la curva (Figura 3.1).

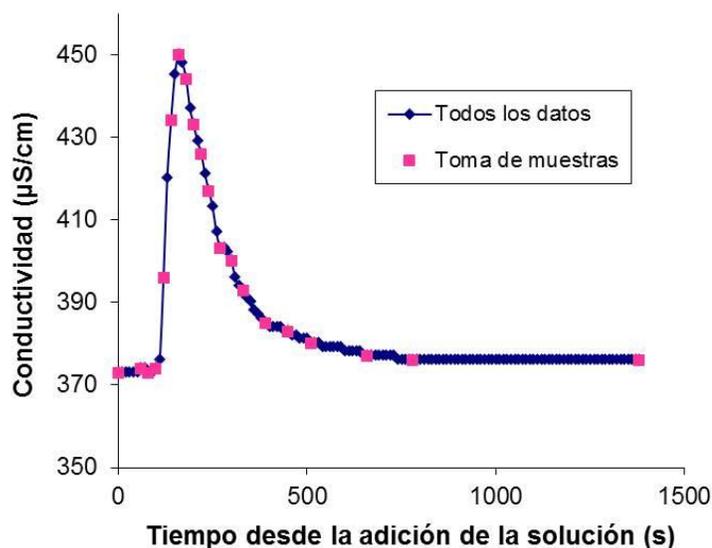


Figura 3.1. Curva de conductividad en función del tiempo, obtenida al final del tramo después de una adición instantánea de nutrientes junto con NaCl. En azul se observan los datos de conductividad y en rosa el momento en que se tomaron las muestras de agua.

No se realizaron adiciones de nitrato debido a las altas concentraciones que suele presentar este ion en los arroyos pampeanos, lo que requeriría un volumen muy grande de solución madre y haría impracticable el método. Por otra parte, como el amonio suele estar

en bajas concentraciones y el objetivo fue estimar la captación potencial de nitrógeno, para realizar esta estima se optó por adicionar este ion de manera de agregar la menor cantidad de solución madre posible.

Para obtener resultados confiables, nos aseguramos una buena mezcla en el punto de adición (Stream Solute Workshop 1990, Martí y Sabater 2009).

Antes de cada adición se colocó un conductímetro al final del tramo con el que se registraron los cambios de conductividad desde el comienzo y hasta que la misma retornó a los niveles iniciales. Una vez iniciada la adición, en la estación ubicada al comienzo del tramo (unos metros arriba del punto de adición), se midió el pH, la conductividad basal, la temperatura y el oxígeno disuelto y se colectaron 5 muestras de agua cada 5-15 minutos (de acuerdo a la duración del experimento en cada ocasión) para determinar las concentraciones basales de nutrientes. En la estación ubicada al final del tramo se tomaron 20 muestras de agua a partir del momento en que se registró el aumento de la conductividad y hasta que la misma volvió al nivel basal. Estas muestras se tomaron cada 20-60 segundos (según la ocasión), ajustando el tiempo a la velocidad de corriente (que determina, a su vez, el tiempo que tarda en llegar la nube de soluto a este punto de muestreo), y que, como fue mencionado anteriormente, fue seleccionado a partir de la curva de conductividad obtenida en la adición de sal previa (Figura 3.1).

Las muestras de agua fueron trasladadas al laboratorio en frío y oscuridad, donde se determinaron las concentraciones de fósforo reactivo soluble y amonio dentro de un lapso no mayor a 6 horas, siguiendo la metodología descrita previamente. Para las determinaciones de nitratos y nitritos, las muestras fueron conservadas con 0,1 % (v/v) de CHCl_3 y mantenidas a 4 °C hasta su determinación (Gardolinski *et al.* 2001).

Caudal

A partir de los datos de conductividad registrados durante la adición se calculó el caudal al final del tramo, mediante la relación entre la masa adicionada de NaCl y el área obtenida al graficar el cambio en la concentración del trazador en el tiempo (Gordon *et al.* 1992) (Figura 3.1). Los valores de conductividad de la solución madre adicionada y los de la curva de conductividad en función del tiempo se convirtieron a concentraciones de cloruros (basándose en la relación lineal de la concentración de cloruro y la conductividad).

El cálculo del caudal (L/s) se obtuvo mediante la relación entre la masa de Cl^- vertida (M_{SM}) y el área de la curva:

$$Q = \frac{M_{SM}}{\int_{i=0}^{\infty} Cl_i dt} + \frac{M_{SM}}{\sum_{i=0}^{\infty} Cl_i \Delta t} \quad (1)$$

(1) dónde Cl_i : concentración de cloruros al final del tramo en el tiempo i y Δt es la frecuencia de toma de datos (10 segundos). M_{SM} se calculó a partir del producto entre la conductividad y el volumen de la solución madre (Elosegi *et al.* 2009).

Velocidad media

A partir de la longitud del tramo (distancia entre el punto de adición y el de medición al final del tramo, Δx) se calculó la velocidad de corriente media en el cauce, v (m/s), como:

$$v = \frac{\Delta x}{\Delta t} \quad (2)$$

donde Δt es el intervalo de tiempo transcurrido entre el momento en que comienza la adición y el arribo del pico de conductividad al punto de muestreo río abajo (Elosegui *et al.* 2009).

Otros parámetros hidrológicos

Para cuantificar otros parámetros hidrológicos se utilizó el programa OTIS (Runkel 1998), que es un modelo matemático de simulación que permite caracterizar el transporte y destino de solutos en ríos y arroyos. OTIS es un modelo unidimensional de transporte de solutos regido por la ecuación de advección-dispersión con términos adicionales para tener en cuenta el almacenamiento transitorio. Los parámetros del modelo son manipulados iterativamente hasta que la curva de concentración generada por el modelo proporciona el mejor ajuste a los datos empíricos. Para correr el modelo se ingresan los datos de conductividad obtenidos empíricamente, la longitud del tramo de estudio, el tiempo total de duración de la adición, el caudal del arroyo y el área transversal del canal principal. Así mismo, a partir de información previa, se utilizan parámetros de referencia para comenzar a correr el modelo y por iteración el programa encuentra los parámetros que mejor ajustan a la curva experimental.

A partir del modelo se obtuvieron los siguientes parámetros hidrológicos: la dispersión (D), el área transversal promedio del cauce (A) y el área de la sección transversal (As) de la zona de retención transitoria (ZRT), el área relativa de la zona de retención transitoria (As/A) y el coeficiente de intercambio entre el canal principal y la zona de almacenamiento (α , es decir, la fracción de agua que entra en la zona de almacenamiento por unidad de tiempo) (Runkel 1998). Con los parámetros estimados a partir del modelo, se calcularon otros parámetros hidrológicos como el coeficiente de intercambio del agua desde la ZRT al canal principal (α_2), la longitud de captación hidráulica (Sh, que es la distancia media que recorre una molécula de agua antes de entrar en la ZRT), la retención hidráulica (Rh, que indica el tiempo que está retenida una parcela de agua en la ZRT), los tiempos de residencia en el cauce principal (Tw) y en la ZRT (Ts), la fracción del tiempo de viaje atribuible a la retención transitoria (Fmed), y el número de Dahmkohler (DaI, que permite evaluar si la longitud de tramo elegida es correcta) (Fellows *et al.* 2001, Ensign y Doyle 2006, Gücker y Pusch 2006, Argerich *et al.* 2008).

Métricas de retención de nutrientes

Tasa de retención por unidad de tiempo (k_t , en 1/s)

La concentración de nutrientes y la conductividad medidas al final del tramo se utilizaron para estimar la tasa de retención por unidad de tiempo (k_t , en 1/s). k_t se calculó comparando la curva de variación de la concentración de cada nutriente (determinadas a partir del análisis químico de las muestras tomadas en el campo) a lo largo del tiempo, con la curva de variación de la concentración de cada nutriente estimada a partir del trazador hidrológico. Para calcular las concentraciones estimadas (N_e) se asume que los nutrientes se comportan como un elemento conservativo y, por lo tanto, son afectados solamente por procesos de retención física (advección, dispersión y dilución); mientras que, la variación de la concentración de nutrientes observada en el arroyo está influenciada, además, por procesos de retención químicos y biológicos (Figura 3.2). En consecuencia, N_e en diferentes momentos del experimento se calculó según la fórmula:

$$N_e = \left(\frac{Cl_t - Cl_b}{Cl_{SM}} N_{SM} \right) + N_b \quad (3)$$

Esta ecuación asume que los cambios en la concentración de nutrientes (corregida por los niveles basales, $N_t - N_b$) en relación con la concentración de solución añadida (N_{SM}) son iguales a los cambios en la concentración del trazador (corregida por los niveles basales, $Cl_t - Cl_b$) en relación con la concentración del trazador de la solución añadida (Cl_{SM}). Si los nutrientes añadidos son retenidos química y/o biológicamente, a lo largo del tramo estudiado, las concentraciones estimadas deben ser más elevadas que las observadas (Figura 3.2). La diferencia entre las dos áreas integradas de las curvas en función del tiempo, de las concentraciones estimadas y observadas, multiplicada por el caudal, es la masa de nutriente retenida en el tramo durante el experimento. Sobre la base de estos valores, la tasa de asimilación por unidad de tiempo (k_t) se calcula según la siguiente fórmula:

$$k_t = \frac{\ln\left(\frac{M_e}{M_o}\right)}{t_p} \quad (4)$$

donde M_e es la masa de nutriente calculada a partir de las concentraciones estimadas, M_o es la masa de nutriente calculada a partir de las concentraciones observadas y t_p es el tiempo medio de viaje en el tramo (tiempo que tarda en pasar el pulso de adición al final del tramo) (Martí y Sabater 2009).

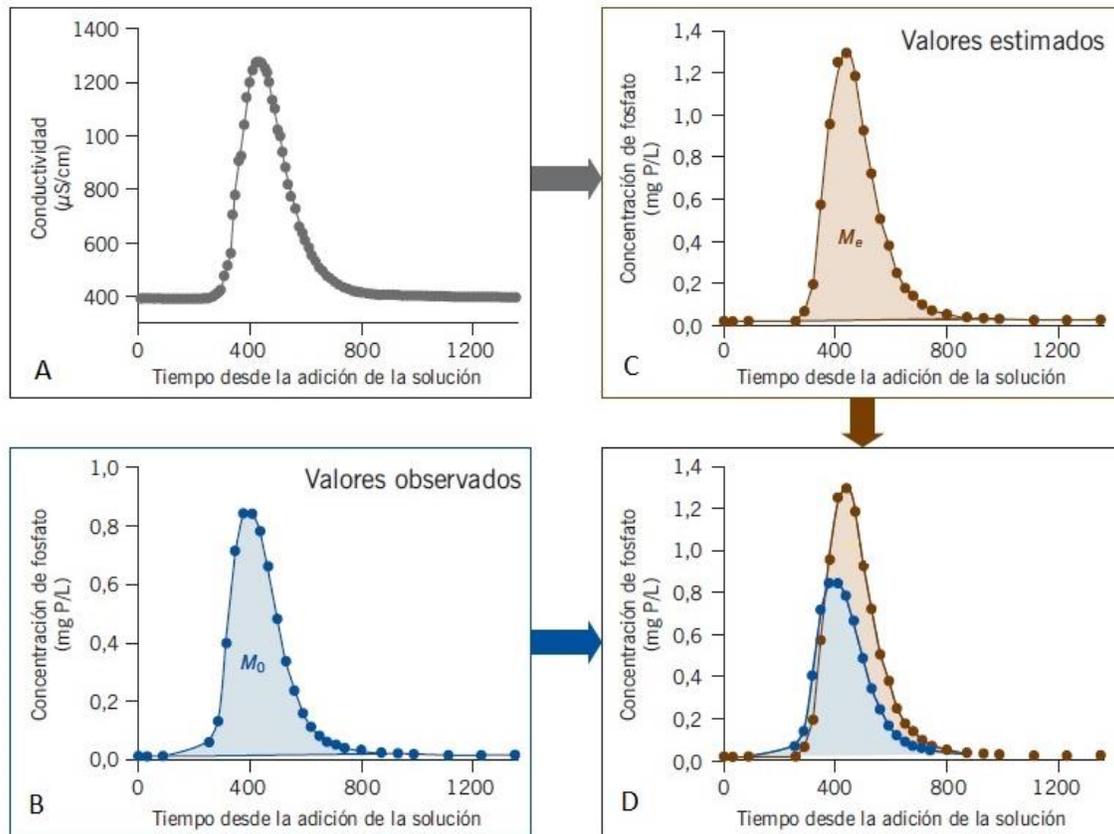


Figura 3.2. Curvas de conductividad (A) y concentración de fosfato (B) en función del tiempo, obtenidas al final del tramo después de una adición instantánea de nutrientes junto con un trazador hidrológico. (C) Curva de concentración de fosfato estimada a partir de los valores de conductividad tras aplicar la ecuación (3). (D) Comparación de la curva de fosfatos esperada y la observada. La diferencia entre las dos áreas integradas de las curvas, multiplicada por el caudal, es la masa de nutriente retenida en el tramo (tomado de Martí y Sabater 2009).

Longitud de captación (S_w)

A partir de la estima de k_t , S_w (m) se calcula como v/k_t , siendo v (m/s) la velocidad de corriente media (Solute Stream Workshop 1990, Martí y Sabater 2009). S_w es independiente de la longitud del tramo, pero depende de la velocidad de corriente y de la carga de nutriente, lo que hace muchas veces inadecuada la comparación entre arroyos o en un mismo arroyo bajo distintas condiciones. Por ello, a partir de S_w se calcularon también las siguientes métricas:

Velocidad de captación (V_f) (m/min)

Representa la velocidad con la que el nutriente viaja de la columna de agua al sedimento y es independiente del caudal. Es un índice de la demanda biológica de nutrientes y una medida de la eficiencia del proceso de retención (Solute Stream Workshop 1990, Hall *et al.* 2002, Martí y Sabater 2009). Se calculó como:

$$V_f = \frac{v * z}{S_w} * 60 \quad (5)$$

donde z es la profundidad promedio del tramo (m).

Tasa de asimilación por unidad de superficie (U) ($mg\ m^{-2}\ min^{-1}$)

Es la masa de nutriente retenida por unidad de superficie y por unidad de tiempo. Representa la capacidad de retención de nutrientes por parte de un río y corrige el efecto de la carga basal de nutriente sobre la adición (Solute Stream Workshop 1990, Martí y Sabater 2009). Se calculó según la siguiente fórmula:

$$U = \frac{Q * C}{S_w * w} * 60 \quad (6)$$

donde Q es el caudal (L/s), C es la concentración basal de nutriente (mg/L) y w es el ancho promedio del tramo (m) (ver sección *morfometría*).

V_f y U permiten corregir el efecto del flujo de nutrientes sobre S_w . V_f corrige el efecto del caudal mientras que U corrige el efecto de la carga de nutrientes. Es por eso que estas dos métricas permiten comparar la retención de nutrientes entre ríos y arroyos con diferente caudal y concentración de nutrientes (Martí y Sabater 2009).

Porcentaje de retención de nutrientes

Se calculó como la relación entre la masa de nutriente agregado que fue recuperada al final del tramo (M_d) y la masa de nutriente adicionado esperada a partir de la masa total liberada, multiplicado por 100 (Stream Solute Workshop 1990, Wilcock *et al.* 2002, Tank *et al.* 2008).

Para investigar la contribución de cada compartimento basal (macrófitas más metafiton, epifiton y epipelon) a la captación total de nutrientes (representada por U_{PRS} y $U_{\text{NH}_4^+}$) las tasas de captación fueron estandarizadas por la biomasa media de cada compartimento a escala de tramo (ver sección *determinaciones de biomasa*). Si bien sabemos que cada compartimento no es funcionalmente igual, hemos utilizado este enfoque y no hemos estandarizado por la producción neta de cada compartimiento porque, al proceder de esa manera, no se obtiene una tasa de captación.

Las métricas de captación también se expresaron en base estequiométrica dividiendo cada una por el peso molecular del elemento correspondiente (P para las métricas de retención de PRS y N para las de NH_4^+).

Para estimar si parte del NH_4^+ adicionado fue nitrificado, se comparó el área obtenida al graficar el aumento de las concentraciones de nitratos y nitritos durante la adición con la obtenida al graficar la concentración de nitratos y nitritos esperada si todo el NH_4^+ se transformara a alguna de estas formas de nitrógeno (Ribot *et al.* 2012).

Caracterización de los tramos

Morfometría

La estructura física del lecho se determinó midiendo el ancho mojado y tres profundidades equidistantes a lo largo de los tramos estudiados a intervalos regulares distanciados 0,5 m para el arroyo LF y 1 m para el DLC. A partir de estos datos se determinó la profundidad promedio (z) de la columna de agua, el ancho medio (w) y la superficie del tramo (en m^2).

Estructura de las comunidades

A lo largo de los tramos de cada arroyo y a los intervalos establecidos (cada 0,5 m para LF y cada 1 m para DLC), se mapeó la distribución de macrófitas estimando la cobertura total de cada parche y la de cada especie midiendo la longitud de la transecta cubierta por agua y por cada especie (Figura 3.3). A partir de los datos obtenidos se construyeron mapas con la distribución de las comunidades en el tramo (Figura 3.4), mediante un programa de imágenes (Image J®) se determinó el área cubierta por cada

compartimento (macrófitas+epifiton, metafiton y epipelon) y se estimó el porcentaje de cobertura de cada comunidad, según el método desarrollado por Feijoó y Menéndez (2009) para arroyos pampeanos. Para el caso del epipelon, el área se calculó como la superficie cubierta por agua (libre de parches) y en el caso del epifiton se determinó como la superficie cubierta por macrófitas.

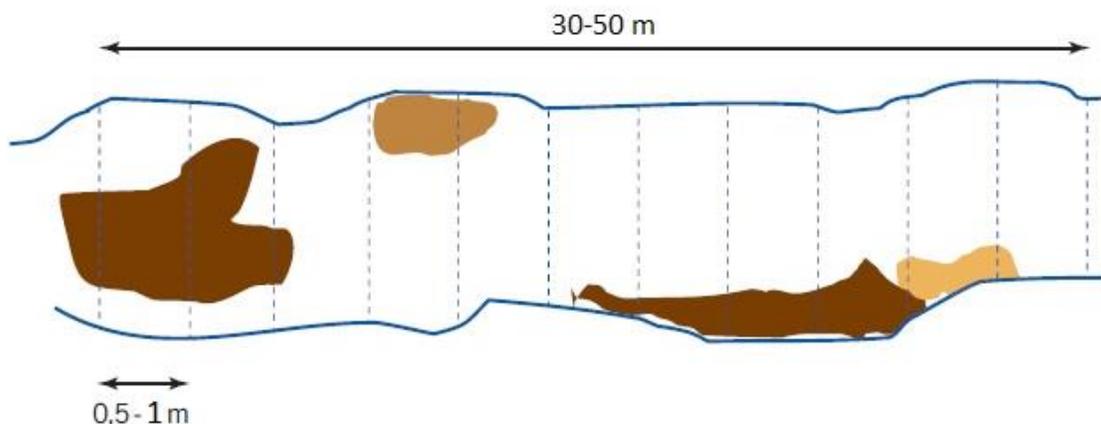


Figura 3.3. Esquema de las transectas realizadas para determinar la superficie cubierta por cada especie de macrófitas (tomado de Feijoó y Menéndez 2009).

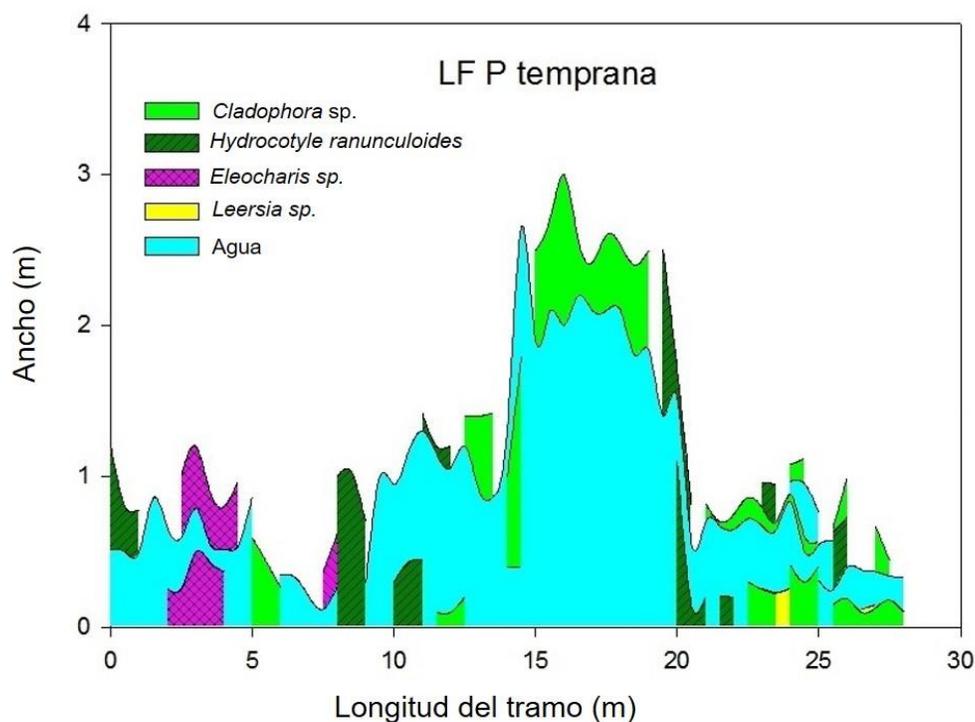


Figura 3.4. Ejemplo de mapa de distribución de parches de macrófitas para el arroyo Las Flores en primavera temprana (P temprana).

Parámetros biológicos

Determinaciones de biomasa

Biomasa de macrófitas

Las macrófitas con mayor porcentaje de cobertura, según cada ocasión, fueron muestreadas con un marco de madera cuadrado ($0,014 \text{ m}^2$). Se colectaron de tres a seis muestras en cada oportunidad. El peso seco (PS) se determinó por secado en estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta peso constante y el peso orgánico seco (POS) por combustión a $480 \text{ }^\circ\text{C}$ por aproximadamente 4 horas. Luego de la combustión, las muestras se pesaron nuevamente, obteniéndose el peso seco inorgánico. El POS (peso seco libre de cenizas) se calculó por diferencia de los dos anteriores. La biomasa (g/m^2) se calculó dividiendo el PS o POS por la superficie del marco cuadrado.

Biomasa de epifiton

Se colectaron seis ápices (15 cm de largo) de macrófitas evitando los ápices jóvenes y las partes erectas situadas fuera del agua y se colocaron en botellas de polipropileno que contenían agua del arroyo previamente filtrada por filtros de fibra de vidrio Munkell® GF/F (para evitar la presencia de algas fitoplanctónicas). Para separar el epifiton, los ápices de macrófitas fueron sonicados en un baño de ultrasonidos 3 veces durante 1 minuto, en el agua del arroyo filtrada. Luego, fueron lavados y limpiados cuidadosamente con pincel (Vilches y Giorgi 2010). Los ápices fueron retirados, lavados y puestos a secar a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta peso constante (PS_{ma}). El sobrenadante con epifiton fue filtrado mediante filtros Munkell® GF/F pre-pesados, que luego fueron secados a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta peso constante para estimar el PS de epifiton en el filtro (PS_{epif}) y a $480 \text{ }^\circ\text{C}$ para estimar el POS. La biomasa de epifiton por unidad de biomasa de macrófita se calculó dividiendo el PS_{epif} por el PS_{ma} ($\text{g}_{\text{epif}}/\text{g}_{\text{ma}}$). La biomasa de epifiton en cada arroyo ($\text{g}_{\text{epif}}/\text{m}^2$) se calculó multiplicando ($\text{g}_{\text{epif}}/\text{g}_{\text{ma}}$) por la biomasa de macrófita ($\text{g}_{\text{ma}}/\text{m}^2$).

Biomasa de epipelon

Se muestreó con un corer de 4 cm de diámetro (área = $0,0013 \text{ m}^2$), tomando de 6 a 9 muestras al azar a lo largo del tramo. La biomasa del epipelon se determinó por corte de la

capa superficial (2 cm) de la muestra extraída con corer, secado hasta peso constante para la determinación del PS y combustión para el POS de acuerdo a la metodología descrita más arriba. La biomasa (g/m^2) se estimó dividiendo el POS por el área del corer.

Material particulado en suspensión

Se tomaron 3 muestras de agua en cada tramo en botellas de polipropileno de 1 L. El material particulado en suspensión se determinó filtrando la muestra (volumen mínimo 200 mL) con filtros de fibra de vidrio Munkell® GF/F calcinados y pre-pesados. Los filtros se secaron a 60 °C hasta peso constante para obtener el PS. Posteriormente, los filtros fueron calcinados a 480 °C durante 4 horas para estimar el POS. Los resultados se expresan en mg/L (Strickland y Parsons 1972).

Todas las muestras biológicas fueron transportadas al laboratorio en oscuridad y frío para ser procesadas. Las pesadas fueron realizadas con una balanza analítica Ohaus +/- 0,0001 g.

El uso combinado de los datos de biomasa junto a los de cobertura obtenidos con el mapeo permitió estimar la biomasa de cada compartimento estandarizada por la superficie del tramo (g POS/m^2).

Clorofila-a en epifiton y epipelon

Se estimaron las concentraciones de clorofila-*a* y de feopigmentos en el epifiton y el epipelon utilizando el método de Lorenzen (Aminot 1983). Las muestras fueron obtenidas de la misma manera que para las determinaciones de biomasa (muestras de corer para el epipelon y filtrado de muestras para epifiton). Las muestras se conservaron en freezer a -20 °C durante un corto lapso (nunca superior a 30 días) hasta la realización de los análisis.

Para las determinaciones en epifiton se realizó una extracción en frío sumergiendo los filtros con la muestra durante 24 horas en acetona 90%. Posteriormente, el material se machacó para completar la extracción, se centrifugó (20 min a 700 revoluciones por minuto) y se leyó la absorbancia del sobrenadante en espectrofotómetro Shimatzu UV-1800, en las longitudes de onda de 750 nm y 665 nm, antes y después de acidificar con ácido clorhídrico 0,03 M. El valor registrado a 665 nm es considerado como el pico de

absorción de la clorofila-*a*, mientras que la lectura a 750 nm permite descontar la turbidez a los valores registrados a 665nm. Se puede realizar el cálculo de la cantidad de clorofila-*a* presente en la muestra mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Biomasa}_{\text{Cl-}a} \text{ (mg Cl-}a\text{/m}^2\text{)} = \frac{26,7 * (\text{Abs}_{665} - \text{Abs}_{750} - (\text{Abs}_{665\text{ac}} - \text{Abs}_{750\text{ac}})) * v}{S * D} * \frac{V}{V_2}$$

donde:

26,7: constante de proporcionalidad

Abs₆₆₅: Absorbancia antes de acidificar

Abs_{665ac}: Absorbancia luego de acidificar

v: Volumen del extracto de acetona (L)

S: Superficie del sustrato (m²) o Volumen de la muestra extraída.

D: Longitud del trayecto óptico (cm)

V: Volumen total o volumen de resuspensión

V₂: Volumen de la muestra o volumen filtrado

En el caso de la determinación de clorofila-*a* en epipelon, también se realizó una extracción en frío sumergiendo, en este caso, las muestras extraídas con corer durante 24 horas en 25 mL de acetona 90%. Posteriormente a la extracción con acetona, las muestras fueron filtradas con un filtro de papel y 10 mL de la acetona filtrada fueron centrifugados durante 20 minutos a 700 rpm. Luego, se continuó con la metodología descrita para el epifiton.

Índice autotrófico (IA)

Evalúa la biomasa algal presente en la biomasa total epifítica o epipélica. Se calcula como:

$$IA = \frac{\text{Peso Orgánico Seco}}{\text{Clorofila-}a}$$

Valores mayores a 200 indican una comunidad heterotrófica (APHA 2005).

Metabolismo

Metabolismo del ecosistema (Método abierto)

Las tasas de producción primaria bruta (PPB) se determinaron, en cada ocasión, mediante el método del cauce abierto de una estación (Odum 1956, Uehlinger y Naegeli 1998). Las tasas fueron calculadas midiendo los cambios en las concentraciones de oxígeno disuelto (OD) a intervalos de 5 minutos durante 24 horas abarcando, en ese período, el momento de la realización de la adición de nutrientes. Se utilizó un oxímetro de campo (HQ40D, HACH Company: Loveland, Colorado, USA) que registra la concentración de OD, el porcentaje de saturación de OD, la temperatura (°C) y la presión. La sonda fue colocada en el medio del cauce, a unos 5 cm por debajo de la superficie del agua y unos pocos metros río arriba del punto de adición (Figura 3.5). La producción primaria neta (PPN, expresada en $\text{gO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ min}^{-1}$) fue calculada a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{PPN} = \left[\frac{d\text{OD}}{dt} + k_{\text{O}_2} (\text{OD}_s - \text{OD})z \right]$$

donde OD es la concentración de oxígeno disuelto (g/m^3), t es el tiempo (min), k_{O_2} es el coeficiente de reaeración (1/min) corregido por la temperatura ($k(T) = k_{20^\circ\text{C}} 1.024^{(T-20^\circ\text{C})}$; Thyssen *et al.* 1987), OD_s es la concentración de saturación de oxígeno en las condiciones de temperatura y presión atmosférica determinadas (g/m^3) y z es la profundidad media del arroyo (m).

La reaeración, que es el proceso de transferencia de oxígeno a través de la interfase agua-aire, se estimó mediante el método de la variación nocturna de oxígeno a partir del decaimiento de la concentración de OD después del atardecer (Hornberger y Kelly 1975). En una regresión lineal que represente los datos nocturnos de la concentración de oxígeno en continuo en intervalos de tiempo ($d\text{OD}/dt$) respecto del déficit de saturación de oxígeno en el agua ($\text{OD}_s - \text{OD}$) (Figura 3.6), la pendiente de la recta es el coeficiente de reaeración (k_{O_2}) (Acuña *et al.* 2009). Para determinar el inicio del día y de la noche, se utilizaron los

datos oficiales de salida y puesta del sol del Servicio de Hidrografía Naval (<http://www.hidro.gob.ar>).



Figura 3.5. Imagen de la sonda en el cauce del arroyo.

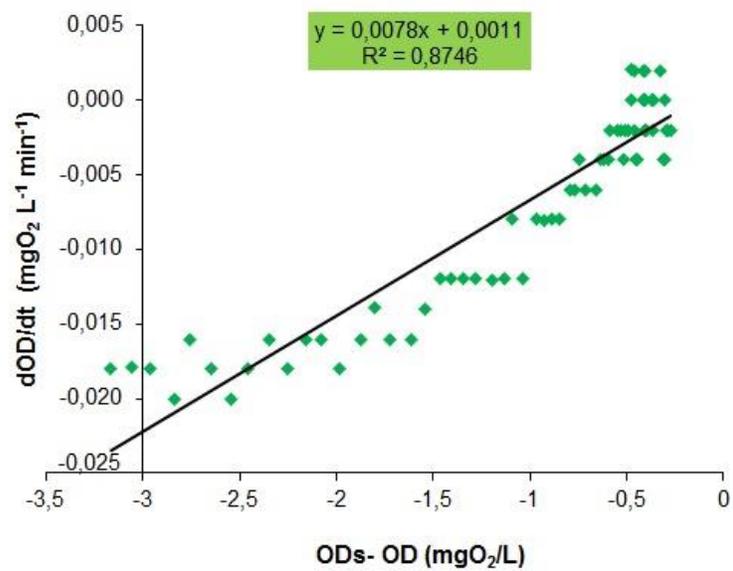


Figura 3.6. Ejemplo de una regresión lineal entre dOD/dt y $(OD_s - OD)$ para determinar el coeficiente de reaeración. En este ejemplo, $k_{O_2} = 0,0078$ 1/min.

La PPN diaria fue calculada como la suma de la PPN (por minuto) por 24 h. La respiración diaria del ecosistema (RE) se determinó como la suma de la PPN durante la noche y la respiración durante el día (obtenida por la interpolación lineal entre las PPNs un par de horas antes del amanecer del día posterior al experimento de adición y las PPNs una hora después del atardecer del día de la adición). La producción primaria bruta diaria (PPB) se calculó como la suma de la PPN diaria y la RE diaria (Odum 1956) y el índice P/R se estimó como PPB/RE.

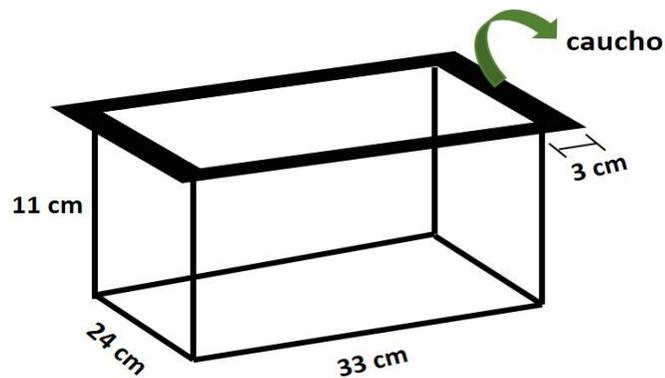
Metabolismo de cada compartimento (Método cerrado)

Se evaluó el metabolismo de cinco compartimentos basales (macrófitas sumergidas, metafiton, epifiton, epipelon y seston) mediante el método de las cámaras de incubación (Bott *et al.* 1978). La PPN y la R de cada compartimento basal se estimaron midiendo la variación de la concentración de OD en cámaras de acrílico rectangulares sin circulación interna que contenían porciones de las distintas comunidades de productores primarios en su interior (Figura 3.7, Figura 3.8). Debido a la baja velocidad del agua en los arroyos pampeanos y a que los nutrientes fueron suficientemente altos como para no provocar limitación de recursos durante los tiempos de incubación, las cámaras no requirieron circulación interna de agua (Velasco *et al.* 2003, Vilches y Giorgi 2010). En cada oportunidad de muestreo (el día siguiente al de cada adición) se colectaron porciones al azar de cada compartimento a lo largo de los tramos bajo estudio utilizando la metodología descrita en la sección *caracterización de los tramos*, se colocaron en las cámaras y se completó el volumen con agua del arroyo. En el caso de las macrófitas sumergidas y el metafiton se eligió, en cada oportunidad de muestreo, la especie con mayor porcentaje de cobertura. Las porciones de comunidades dentro de las cámaras no excedieron nunca el 10% del volumen de las mismas (Bott *et al.* 1978). En cada ocasión se utilizaron tres réplicas (cámaras) para cada tratamiento (tratamiento = compartimento) constituyendo un total de 15 cámaras en funcionamiento a la vez cuando todas las comunidades estaban presentes en los arroyos. Los cuatro tratamientos fueron:

- A) **macrófitas sumergidas** (porciones de macrófitas vasculares previamente lavadas con agua de arroyo y un pincel, de manera de remover el epifiton adherido a las mismas)

- B) **macrófitas sumergidas + epifiton** (porciones de macrófitas vasculares sin remoción de epifiton)
- C) **metafiton** (fragmentos de algas filamentosas)
- D) **epipelon** (tres muestras por cámara tomadas con un corer de 4 cm de diámetro, superficie = 0,0013 m²)
- E) **control (seston)**: únicamente agua de arroyo. Dado que todas las cámaras se llenaron con agua de arroyo, se evaluó el metabolismo de la columna de agua para luego descontarlo de las medidas obtenidas para los demás compartimentos.

Todas las cámaras fueron sumergidas en el arroyo durante las incubaciones de manera de minimizar las variaciones causadas por diferencias de temperatura y condiciones de luz respecto al medio natural (Figura 3.8).



vista lateral

Figura 3.7. Esquema de la vista lateral de una cámara de metabolismo utilizada en este estudio con sus dimensiones. Las cámaras poseen una capacidad aproximada de 6 litros pero existen pequeñas diferencias entre las dimensiones de cada cámara de modo que el volumen exacto de cada una de ellas fue medido previo a las determinaciones.



Figura 3.8. Vista de las cámaras de metabolismo con algunos de los compartimentos utilizados, sumergidas en el arroyo para la incubación.

La producción primaria neta de cada comunidad (PNC) se determinó incubando las cámaras durante una hora a la luz para evitar condiciones de saturación dentro de las mismas. La respiración de cada comunidad (RC) se midió incubando las cámaras durante 2 horas en oscuridad luego de cubrirlas con un plástico negro grueso. Se utilizaron las mismas porciones de comunidad para medir la RC y la PNC, para evitar las variaciones ocasionadas por el cambio de sustrato. Al inicio y al final de cada incubación se midió la concentración de oxígeno, la temperatura y el pH del agua en cada cámara con los instrumentales de campo mencionados más arriba (Figura 3.9). Todas las incubaciones se realizaron entre las 10:30 y las 13:30 horas para minimizar las diferencias de temperatura del agua entre las incubaciones de RC y PNC, y entre fechas de muestreo. La producción primaria bruta de cada comunidad (PBC) se determinó como la suma de la PN y la R en cada cámara. Las tasas metabólicas del seston fueron sustraídas de los otros cuatro tratamientos. En las cámaras con epifiton, la variación de oxígeno relativa a la porción de

macrófita asociada también fue descontada utilizando los valores de variación de oxígeno por gramo de macrófita obtenidos en las cámaras con macrófitas limpias (Vilches y Giorgi 2010).

La biomasa de cada porción de comunidad utilizada se determinó con los mismos métodos descritos en la sección *determinaciones de biomasa*. La RC, PNC y PBC fueron calculadas en unidades de producción o consumo de oxígeno por unidad de tiempo y gramo de peso orgánico seco (g POS) de sustrato utilizado y se expresan en $\text{g O}_2 \text{ g (POS)}^{-1} \text{ h}^{-1}$ o en unidades de producción o consumo de oxígeno por unidad de tiempo y superficie de sustrato utilizado, teniendo en cuenta la superficie del tramo cubierta por los diferentes compartimentos obtenida a partir del mapeo y se expresan en $\text{g O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

Las fórmulas utilizadas en los cálculos de producción y respiración se basaron en Wetzel y Likens (1991) difiriendo de acuerdo al tratamiento, de modo de poder comparar las comunidades entre sí (Vilches 2005).

Seston/control: sólo se utilizó para descontar del resto de los compartimentos la variación de la concentración de oxígeno durante la incubación debido al seston y no se calculó como un compartimento independiente.

A), C) y D) macrófitas sumergidas, metafiton y epipelon

$$\text{PN (g O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}) = \frac{(\Delta\text{O}_2 - \Delta\text{O}_2\text{seston}) * 60 * V_c}{1000 * t * \text{sup}}$$

$$\text{R (g O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}) = \frac{(\Delta\text{O}_2 - \Delta\text{O}_2\text{seston}) * 60 * V_c}{1000 * t * \text{sup}}$$

donde:

ΔO_2 es la variación de la concentración de oxígeno durante la incubación.

ΔO_2 seston es el promedio de la variación de oxígeno en las cámaras con seston.

60 es el factor de conversión a horas para el tiempo de incubación.

V_c es el volumen de la cámara al que, según el caso, se le descontó el volumen desplazado por las plantas, el metafiton o los corer utilizados en cada incubación.

1000 es el factor de conversión que permite expresar el volumen de la cámara en mL.

t es el tiempo total de incubación en minutos.

sup es la superficie de sustrato utilizada en la incubación expresada en m^2 .

B) epifiton

$$PN \text{ (gO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}) = \frac{(\Delta O_2 - \Delta O_2 \text{ seston}) * 60 * V_c}{1000 * t * \text{sup}} - PN_M$$

$$R \text{ (gO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}) = \frac{(\Delta O_2 - \Delta O_2 \text{ seston}) * 60 * V_c}{1000 * t * \text{sup}} - R_M$$

dónde:

PN_M es la producción neta media de macrófitas.

sup es la superficie de macrófita utilizada en la incubación expresada en m^2 .

R_M es la respiración media de macrófitas.

Radiaciones fotosintéticamente activas (PAR)

Los datos de radiación fotosintéticamente activa (PAR) se registraron de forma continua cada 10 minutos utilizando un sensor PAR (PAR-Lite, Kipp & Zonen, Delft, Países Bajos, error de medición $\pm 0,05$) y registrador de datos (CR1000, Campbell Scientific Inc., Utah, EE.UU.) situado en la estación meteorológica radiométrica del Grupo de Estudios de la Radiación Solar, de la Universidad Nacional de Luján. Se expresan en $\mu\text{mol}/m^2\text{s}$. Así mismo, en cada fecha de muestreo y durante el período que duraron las incubaciones del metabolismo de cámaras, se midieron las PAR sobre la superficie del agua, subsuperficialmente y en el fondo de los arroyos con un sensor esférico quantum sumergible (sensor LI-193 instalado en LI-250 Quantum Meter, ambos LICOR Inc., Lincoln, NA, U.S.A) con sensibilidad $1\mu\text{mol seg}^{-1}m^{-2}$.

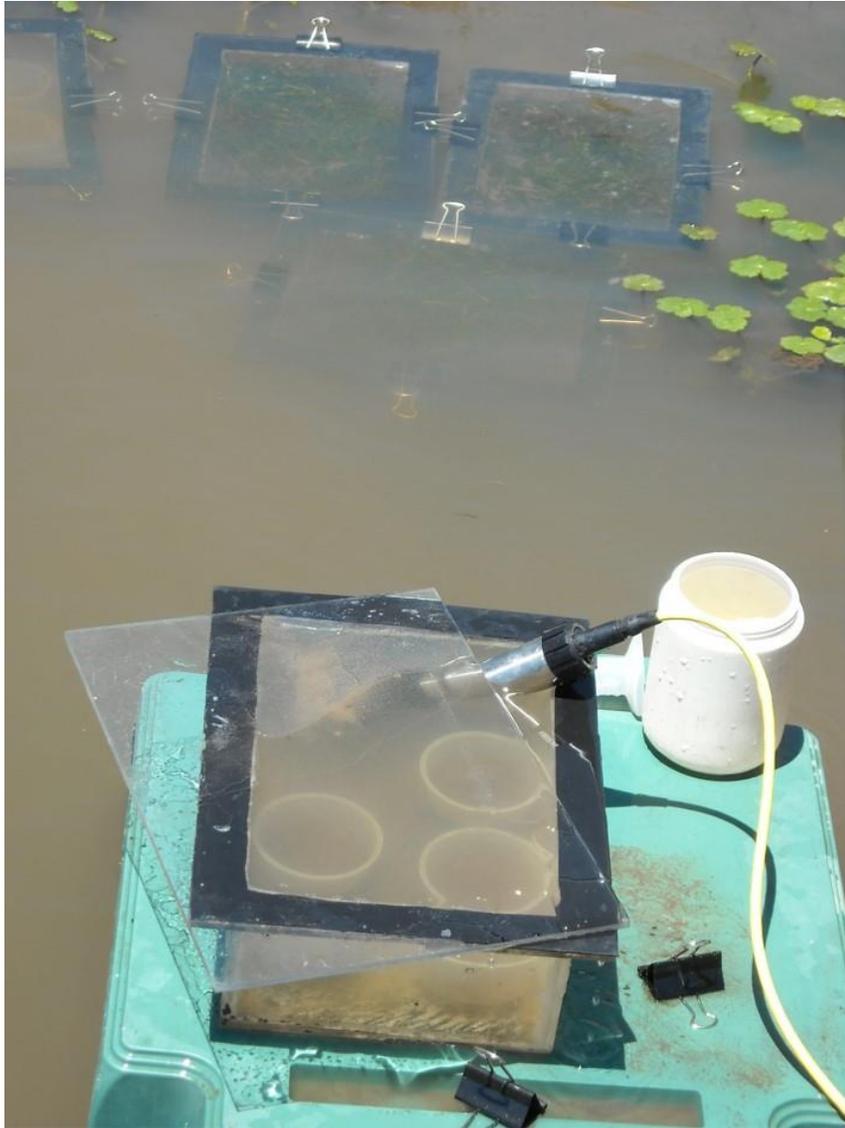


Figura 3.9. Medición de las variaciones oxígeno, pH y temperatura con sonda de campo en una cámara con epipelon.

Capítulo 4- Retención de nutrientes e influencia de la producción primaria a lo largo de un ciclo anual en dos arroyos pampeanos: trabajo de campo

Parte de los resultados de este capítulo están en revisión para su publicación en *Freshwater Science* como:

García VJ, Gantes P, Giménez L, Hegoburu C, Ferreiro N, Sabater F, Feijoó CS. “High nutrient retention in chronically nutrient-rich lowland streams.”

Introducción

Los arroyos son sitios importantes para el transporte y la transformación de nutrientes, pero difieren considerablemente en su capacidad de retención (Peterson *et al.* 2001). Esta variación en la retención de nutrientes entre arroyos se ha convertido en el foco de un número considerable de investigaciones recientes con el objetivo de determinar cuáles son los factores bióticos y abióticos que controlan las tasas de captación de nutrientes (Simon *et al.* 2005).

Generalmente, la retención de nutrientes ha sido estudiada en arroyos prístinos con bajos niveles basales de nutrientes. En condiciones prístinas, la morfología del canal, la interacción hidrológica entre el agua superficial y el agua del hiporreico, el origen geológico y el tamaño de grano de los sedimentos del cauce (Munn y Meyer 1990, Valett *et al.* 1996, Gücker y Boechat 2004), así como la productividad biológica y la concentración basal de nutrientes (Martí y Sabater 1996, Dodds *et al.* 2002, Hall y Tank 2003), parecen ser determinantes importantes de la retención de nutrientes. Sin embargo, poco se sabe acerca de las tasas, los mecanismos y los controles de la retención de nutrientes en arroyos eutróficos (Gücker y Pusch 2006). No obstante, algunos estudios se han focalizado en la eficiencia y la retención de nutrientes en arroyos que reciben entradas de fuentes puntuales de contaminación (Martí *et al.* 2004, Haggard *et al.* 2005). Estudios realizados en el Hemisferio Norte han mostrado que la eficiencia de retención (expresada como V_f) disminuye a medida que la concentración de nutrientes aumenta, dando como resultado eficiencias más bajas en arroyos impactados y con niveles de nutrientes más altos que en

los arroyos prístinos (Hoellein *et al.* 2007, Mulholland *et al.* 2008, Marcé y Armengol 2009). En contraposición, poco se sabe del procesamiento de nutrientes en sistemas crónicamente ricos en nutrientes (O'Brien *et al.* 2007) donde las comunidades biológicas poseen una larga historia de coexistencia con un ambiente con alta disponibilidad de nutrientes.

O'Brien y Dodds (2010) compararon la respuesta de la captación de nitrato al enriquecimiento tanto a corto plazo (agudo) como a largo plazo (crónico), definiendo como carga crónica al aumento de la concentración de nitrógeno basal de meses a años. Allí observaron que la tasa de absorción de nitratos fue mayor en los arroyos con enriquecimiento agudo que en los arroyos enriquecidos crónicamente, lo que sugiere una menor capacidad de retener nitrógeno por parte de los últimos. Sin embargo, ¿cómo operará el proceso de captación en arroyos que han estado eutróficos durante siglos o incluso milenios? Los arroyos pampeanos son un claro ejemplo de sistemas fluviales con elevadas concentraciones de nutrientes que no pueden ser exclusivamente atribuidas al amplio desarrollo de las actividades agrícolas en la región. El estado eutrófico de los cuerpos de agua pampeanos parece ser una característica persistente desde hace mucho tiempo; incluso, mucho antes de la introducción del ganado por parte de los españoles durante el período colonial y del surgimiento de la agricultura en el siglo XIX (Feijoó y Lombardo 2007). Existen evidencias de la presencia de cuerpos de agua en avanzado estado de eutrofización en la región pampeana en los intervalos 10,000-8000 AC y 3900-3000 AC (Prieto 1996, Zárate *et al.* 2000). En consecuencia, las comunidades biológicas que viven en los ambientes acuáticos pampeanos han coexistido con altos niveles de nutrientes durante miles de años y deberían estar bien adaptadas a las condiciones de enriquecimiento.

A pesar de las elevadas concentraciones de nutrientes registradas en los arroyos pampeanos, existen evidencias a favor de que la retención de nutrientes puede ser alta en estos sistemas (Feijoó *et al.* 2011, Rodríguez Castro 2015). Feijoó *et al.* (2011) postularon que la captación de fosfato dependería más de la biomasa y actividad metabólica de los biofilm, mientras que las macrófitas desempeñarían un papel estructural al aumentar la heterogeneidad del hábitat (Giorgi *et al.* 2005, Ferreiro *et al.* 2011). La presencia de macrófitas reduce la velocidad de corriente y retrasa el transporte de solutos río abajo, aumentando las zonas de retención transitorias (ZRT) (Wilcock *et al.* 2004, Gucker y

Boëchat 2004). En consecuencia, en los arroyos pampeanos, las macrófitas no favorecerían la retención de nutrientes por asimilación directa sino ampliando la zona de aguas lentas y de almacenamiento transitorio y brindando un sustrato para la fijación de micro y macroalgas (Feijoó *et al.* 2011). Esto podría explicar por qué estos arroyos con alto contenido de nutrientes muestran mayor captación de la que cabría esperar.

Para evaluar la retención de fosfato (como fósforo reactivo soluble, PRS) y de amonio (NH_4^+) y cuantificar las métricas de retención, se llevaron a cabo adiciones puntuales de nutrientes en dos arroyos pampeanos con diferente estructura de la comunidad autotrófica a lo largo de un ciclo anual. Además, se determinó qué variables hidrológicas y biológicas influían más en la retención de nutrientes en estos arroyos. Dentro de las variables hidrológicas, consideramos al caudal y al área relativa de la zona de retención transitoria (A_s/A) como las variables más importantes. Las variables biológicas incluyeron la biomasa y el metabolismo de las macrófitas sumergidas, del metafiton, del epifiton, del epipelon, y el metabolismo de todo el arroyo. También se analizó la relación entre el procesamiento de PRS y NH_4^+ y la concentración de nutrientes para determinar si la función de captación se encontraba saturada en estos arroyos.

Una de nuestras hipótesis de trabajo fue que la captación de nutrientes depende del caudal y del área relativa de la zona de almacenamiento transitorio, área que a su vez depende de la abundancia de macrófitas. A partir de esta hipótesis la predicción que se desprende es que un bajo caudal y una alta biomasa de macrófitas aumentarán la captación de PRS y NH_4^+ . La segunda hipótesis de trabajo que planteamos es que la captación de NH_4^+ y PRS por parte de los biofilm algales será mayor que la captación por parte de las macrófitas. En base a esta hipótesis, predecimos que el aumento de la biomasa y de la productividad algal elevará la captación de PRS y NH_4^+ .

Diseño experimental

Como ya fue detallado en el capítulo 2, el trabajo de campo se desarrolló en los arroyos Las Flores (LF) y De la Cruz (DLC), ambos situados al NE de la provincia de Buenos Aires. Las estimaciones de las métricas de retención y del metabolismo se realizaron una vez cada tres meses en ambos arroyos, a modo de incorporar la variabilidad

anual. Se llevaron a cabo 5 experimentos de adición de nutrientes en cada arroyo, en septiembre (primavera temprana), diciembre (primavera tardía), febrero (verano), abril (otoño) y julio (invierno) entre los años 2011 y 2013, siguiendo la metodología descrita en el capítulo 3 (*medición de la espiral de nutrientes*). Los experimentos de primavera tardía y verano fueron realizados en la temporada 2011-2012 en el caso del arroyo DLC mientras que, para el arroyo LF, a causa de la sequía entre diciembre de 2011 y febrero de 2012, el arroyo poseía un caudal muy bajo y una velocidad de corriente nula que impidió realizar los experimentos de adición; por lo tanto, los experimentos de primavera tardía y verano fueron realizados en la temporada 2012-2013.

Junto a los experimentos de adición, se estimó el metabolismo del ecosistema mediante el método de cauce abierto (capítulo 3, *metabolismo del ecosistema*), iniciando cada medición antes del comienzo de las adiciones y finalizándolas el día siguiente, una vez concluida la determinación del metabolismo de cámaras (capítulo 3, *metabolismo de cada compartimento*). Posteriormente a la medición del metabolismo cerrado se realizaron mapeos de los tramos para describir la morfología del cauce y cuantificar la superficie cubierta por cada comunidad autotrófica (capítulo 3, *caracterización de los tramos*), y se tomaron muestras para determinar las respectivas biomásas (capítulo 3, *parámetros biológicos-determinaciones de biomasa*).

Análisis Estadístico

La normalidad de todas las variables respuesta fue verificada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. A menos que se indique lo contrario, todos los resultados se presentan como la media \pm la desviación estándar (DS). Para evaluar las diferencias en la biomasa como peso orgánico seco (POS) y como miligramos de clorofila-*a* por metro cuadrado (mg Cl-*a*/m²), en la respiración de cada compartimento basal (RC) y en la producción primaria bruta de cada compartimento basal (PBC), entre estaciones, entre compartimentos y entre arroyos se utilizaron los Modelos Lineales Generalizados Mixtos [del inglés: Generalized Linear Mixed Models (GLMMs)], con el programa estadístico R y el paquete de datos de GLMMs (Zuur *et al.* 2009), en un entorno de InfoStat. Para realizar dichos análisis se ajustaron los modelos con distinta homocedasticidad y mediante el

criterio de verosimilitud AIC (del inglés: Akaike Information Criteria) se eligió el mejor modelo (Balzarini *et al.* 2008). Para todos los análisis, en el caso de detectarse una interacción significativa entre factores se realizó un análisis de efectos simples. En el caso contrario, se estudiaron los efectos principales independientemente. En caso de detectarse diferencias significativas, se realizó un análisis de LSD Fisher *a posteriori* de comparación de medias.

Para probar las relaciones entre el caudal y As/A y entre As/A y la biomasa de macrófitas se utilizó una regresión lineal. Las relaciones entre las métricas de captación y la concentración basal de nutrientes fueron analizadas evaluando su ajuste a los modelos propuestos por O'Brien *et al.* (2007) (capítulo 1) a través de una regresión de cuadrados mínimos con el algoritmo de estimación de Levenberg-Marquardt. El mismo análisis fue realizado para evaluar la relación entre las tasas de captación de nutrientes estandarizadas por la biomasa de los diferentes compartimentos basales. Para la relación entre U_{PRS} estandarizada por la biomasa y la concentración de PRS, además del ajuste a los modelos propuestos por O'Brien *et al.* (2007), se evaluó un ajuste a un modelo de respuesta exponencial. Para analizar las posibles relaciones entre las métricas de captación y las variables hidrológicas, biológicas y metabólicas se realizaron correlaciones de Spearman. Asimismo, la covariación de las métricas de captación de PRS y de NH_4^+ también se analizó mediante una correlación de Spearman. El nivel de significancia fue fijado en 0,05. Para todos los análisis se utilizó el programa InfoStat.

Resultados

Características fisicoquímicas, hidráulicas y morfométricas

Ambos arroyos registraron altos valores de conductividad y concentraciones de nutrientes (Tabla 4.1). La temperatura del agua varió, a lo largo del año, en concordancia con lo esperado por la variación anual, siendo máxima en primavera tardía y verano para ambos arroyos. Tanto el caudal como la velocidad media del agua fueron altamente variables a lo largo del año, con máximos en primavera temprana, para DLC y en primavera tardía, para LF (Tabla 4.1). LF mostró menor caudal y mayor relación As/A que

DLC. En general, el ancho y la profundidad media fueron bastante constantes a lo largo del año en ambos arroyos (Tabla 4.1).

El PRS varió entre 0,02-0,34 mg/L en DLC y entre 0,02-0,39 mg/L en LF, siendo máximo en verano en DLC y en primavera tardía en LF y mínimo en primavera temprana e invierno en DLC y en primavera temprana y otoño en LF. Las concentraciones de NH_4^+ variaron entre 0,001-0,049 mg/L en DLC y entre 0,004-0,226 mg/L en LF y fueron máximas en otoño para DLC y en primavera tardía para LF y mínimas en invierno para DLC y primavera temprana para LF. La concentración de nitratos fue mayor en LF que en DLC pero la relación N/P fue menor.

Métricas de retención de nutrientes

El porcentaje de retención de amonio fue alto y relativamente constante durante todo el año en ambos arroyos, oscilando entre 73-96% para DLC y entre 69-97 % para LF (Tabla 4.2). A pesar de los altos valores de concentración basal, la retención PRS también fue alta en ambos arroyos, pero a diferencia del amonio, fue más variable durante el año. La máxima retención se registró en verano para DLC y en primavera tardía para LF. La media del porcentaje de PRS retenido a partir del fosfato (PO_4^{3-}) agregado en los diferentes experimentos de adición fue del 65% para DLC (rango: 44-95%) y del 49% para LF (rango: 26-67%).

La tasa de asimilación de PRS por unidad de superficie (U) fue máxima en otoño y mínima en invierno para DLC, y en el caso de LF, fue máxima en primavera tardía y mínima en otoño. La tasa de asimilación de NH_4^+ por unidad de superficie fue máxima en otoño para DLC y en primavera tardía para LF y fue mínima invierno para DLC y en otoño para LF.

En general, las métricas de retención estimadas en ambos arroyos reflejaron la elevada retención de nutrientes, con bajas distancias de asimilación (S_w), altas eficiencias de procesamiento de nutrientes (expresada en términos de la velocidad de captación, V_f) y altas tasas de captación por unidad de superficie tanto para el PRS como para el NH_4^+ (Tabla 4.2). Así mismo, en comparación con los valores obtenidos en estudios previos (Tabla 4.3), las métricas de retención registradas en ambos arroyos fueron elevadas.

Tabla 4.1 Parámetros fisicoquímicos, hidráulicos y morfométricos medidos y estimados a partir de las adiciones de nutrientes en (DLC) arroyo De la Cruz y (LF) arroyo Las Flores: (T) temperatura; (pH); (cond) conductividad, (prof. Media) profundidad media, ancho medio, (Q) caudal; (v media) velocidad media; (As/A) área transversal promedio de la zona de retención transitoria(en m)/área transversal promedio del cauce del arroyo (en m); (PRS) fósforo reactivo soluble; (N-NH₄⁺) amonio; (N-NO₂⁻) nitritos; (N-NO₃²⁻) nitratos; N/P relación nitrógeno/fósforo.

						Variables Hidráulicas			Concentraciones Basales				
	T (°C)	pH	Cond. (μS/cm)	Prof.Media (m)	Ancho Medio (m)	Q (L/s)	v media (m/s)	As/A	PRS (mg/L)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	N/P
DLC													
P temprana	12,8	8,5	919	0,20	2,68	44,7	0,28	0,28	0,02	0,004	---	---	---
P tardía	23,8	---	908	0,13	2,47	22,3	0,18	0,38	0,04	0,014	0,009	1,78	94,15
Verano	26,8	8,5	881	0,14	2,07	8,9	0,11	0,59	0,34	0,031	0,019	7,28	48,42
Otoño	18,8	8,8	834	0,12	2,43	29,5	0,33	0,30	0,14	0,049	0,229	7,36	120,95
Invierno	9,7	9,7	916	0,20	2,47	28,7	0,23	0,32	0,01	0,001	1,026	8,63	1440,55
Media	18,4	8,9	891,6	0,16	2,43	26,8	0,20	0,37	0,11	0,020	0,321	6,26	426,02
DS	7,2	0,6	35,5	0,04	0,22	13,0	0,06	0,13	0,14	0,020	0,481	3,05	677,02
LF													
P temprana	15,0	8,3	858	0,15	1,24	5,9	0,06	0,55	0,02	0,004	---	---	---
P tardía	25,6	---	373	0,16	1,22	18,1	0,16	0,37	0,39	0,226	0,075	1,92	12,77
Verano	21,3	---	768	0,17	1,21	3,4	0,05	0,54	0,18	0,034	0,550	13,88	176,96
Otoño	13,9	8,8	890	0,11	1,77	3,6	0,02	0,70	0,03	0,010	0,479	6,42	591,57
Invierno	16,2	9,0	862	0,15	1,24	6,8	0,06	0,52	0,14	0,025	0,024	24,64	399,67
Media	18,4	8,7	750,2	0,15	1,34	7,6	0,07	0,54	0,15	0,060	0,282	11,72	295,24
DS	4,9	0,4	215,8	0,02	0,24	6,1	0,05	0,12	0,15	0,094	0,270	9,93	253,31

Tabla 4.2 Métricas de retención de PRS y de NH_4^+ estimadas a partir de las adiciones de nutrientes en (DLC) arroyo De la Cruz y (LF) arroyo Las Flores: (U) tasa de asimilación por unidad de superficie; (V_f) velocidad de asimilación; (S_w) longitud de asimilación; % de retención.

	Métricas de la espiral de PRS				Métricas de la espiral de NH_4^+			
	U ($\text{mg m}^{-2}\text{min}^{-1}$)	V_f (m/min)	S_w (m)	Retención (%)	U ($\text{mg m}^{-2}\text{min}^{-1}$)	V_f (m/min)	S_w (m)	Retención (%)
DLC								
P temprana	0,22	0,036	95	44	0,18	0,147	23	90
P tardía	0,41	0,022	56	65	0,41	0,074	18	96
Verano	4,72	0,052	18	95	0,19	0,023	42	73
Otoño	1,87	0,030	55	61	1,16	0,054	30	81
Invierno	0,19	0,036	55	62	0,05	0,115	17	96
Media	1,48	0,035	56	65	0,39	0,082	26	87
DS	1,94	0,011	27	18	0,44	0,049	10	10
LF								
P temprana	0,13	0,012	49	43	0,10	0,051	11	91
P tardía	11,90	0,059	29	67	7,44	0,063	27	69
Verano	0,95	0,017	32	62	0,63	0,044	13	91
Otoño	0,04	0,001	71	26	0,08	0,006	16	73
Invierno	0,85	0,011	53	45	0,86	0,060	9	97
Media	2,77	0,020	47	49	1,82	0,044	15	84
DS	5,12	0,022	17	16	3,16	0,022	7	12

Tabla 4.3. Medias anuales y rangos (entre paréntesis) de las métricas de retención estimadas en la presente tesis y en otros arroyos de la región y del mundo.

Arroyo	S_{w-SRP} (m)	V_{f-SRP} (m/min)	U_{SRP} ($mg\ m^{-2}\ min^{-1}$)	$S_{w-NH_4^+}$ (m)	$V_{f-NH_4^+}$ (m/min)	$U_{NH_4^+}$ ($mg\ m^{-2}\ min^{-1}$)	Fuente
De la Cruz	56(18-95)	38(22-52)	1483(187-4724)	26(17-42)	92(23-165)	400(54-1166)	Presente Tesis
Las Flores	47(29-71)	20(1-59)	2776(44-11899)	15(9-27)	45(6-63)	1820(76-7435)	Presente Tesis
Las Flores (primavera)	250	3,7	1491				Feijó <i>et al.</i> 2011
Las Flores	75	30	4680				Rodríguez Castro 2015
La Choza	1208(35-4463)	21(2-72)	870(120-2640)				Rodríguez Castro 2015
Indio Rico	37	360	7380				Rodríguez Castro 2015
Arroyo Grande	38	240	4920				Rodríguez Castro 2015
27 arroyos de 2 ^{da} orden	62(26-223)	2,6(1,2-6,9)	17(9-35)	120(60-266)	5,1(2,6-10)	32(11-59)	Ensign y Doyle 2006
2 arroyos eutróficos	8700(6800-13400)	0,3(0,1-0,5)	1320(720-1740)	863(400-1400)	2,9(0,8-5,9)	11400(4500-19500)	Haggard <i>et al.</i> 2005
2 arroyos eutróficos	3700			3200			Martí <i>et al.</i> 2004
46 arroyos prístinos	88(6-2955)	4,5(0,3-41)					Marcé y Armengol 2009
20 arroyos eutróficos	3495(50-188115)	0,3(0,1-79)					Marcé y Armengol 2009
84 arroyos eutróficos				720(24-5609)	3,7(0,3-23,6)		Hall <i>et al.</i> 2013
54 arroyos eutróficos	4225(29-87879)	2,2(0,03-11,7)					Hall <i>et al.</i> 2013

Se informan medias para los datos de Haggard *et al.* 2005, Hall *et al.* 2013, Martí *et al.* 2004, Rodríguez Castro 2015, y la presente tesis. Para los otros estudios se presentan medianas. En Ensign y Doyle (2006) los rangos son intercuartiles.

Biomasa y estructura de las comunidades

Para el arroyo DLC, las macrófitas dominantes fueron *Stuckenia sp.* e *Hydrocotyle ranunculoides* a lo largo de todo el año, mientras que *Ludwigia sp.*, *Eleocharis sp.* y *Cladophora sp.* se registraron en algunas oportunidades (Figura 4.1). En el arroyo LF, las macrófitas dominantes fueron *Hydrocotyle ranunculoides* y *Eleocharis sp.* a lo largo de todo el año, mientras que *Ludwigia sp.*, *Leersia sp.*, *Ceratophyllum sp.*, *Alternanthera sp.* y *Cladophora sp.* también se registraron en algunas ocasiones (Figura 4.2).

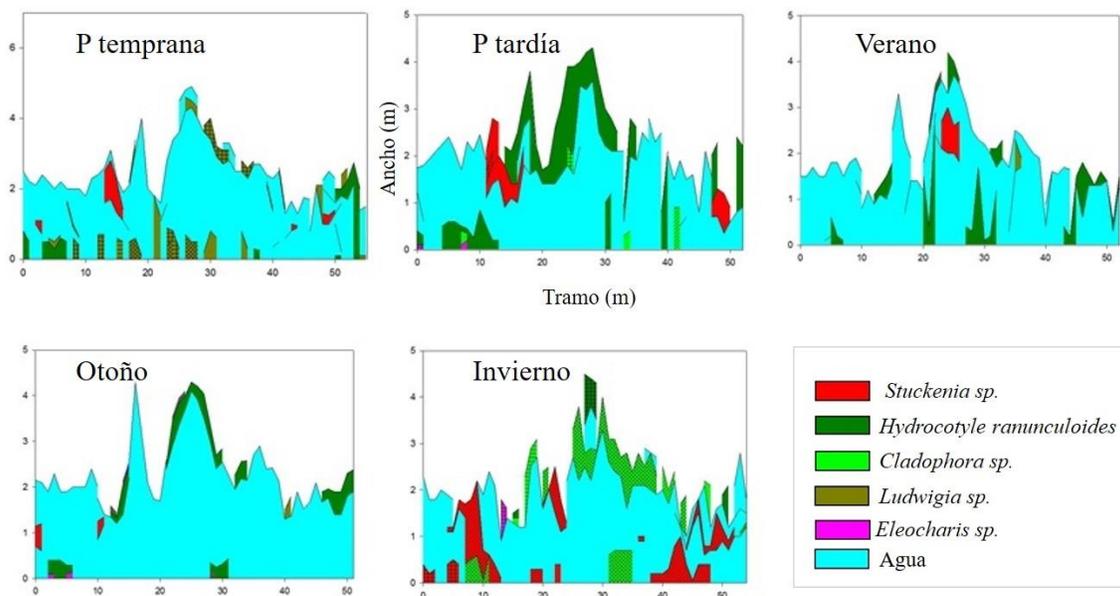


Figura 4.1. Mapas de distribución de los parches de macrófitas a lo largo del tramo de estudio en cada estación del año en el arroyo De la Cruz. Arriba de izquierda a derecha: (P temprana) primavera temprana, (P tardía) primavera tardía y verano. Abajo de izquierda a derecha: otoño e invierno.

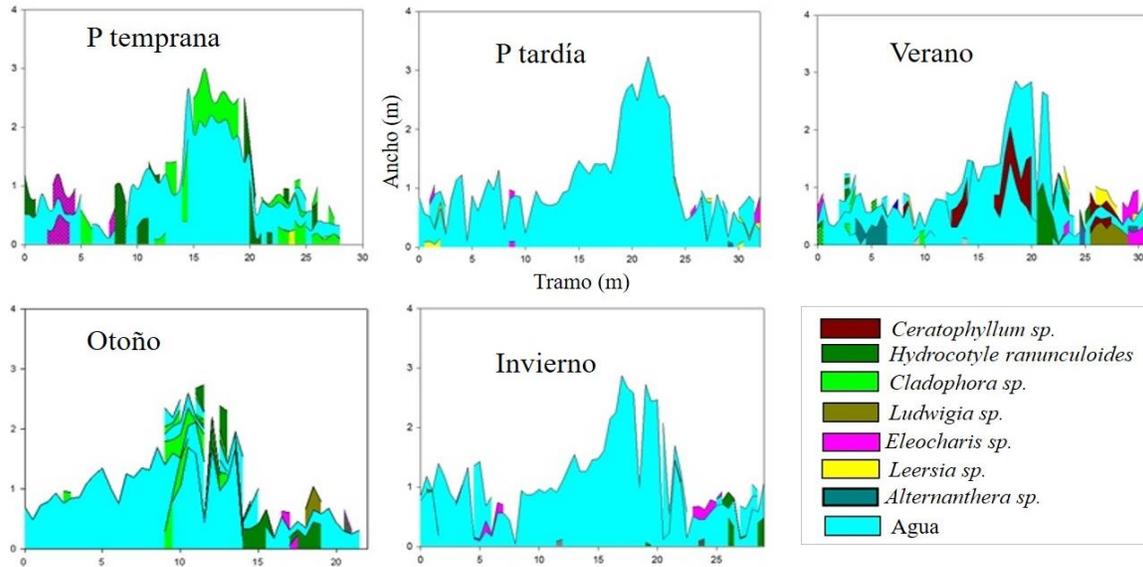


Figura 4.2. Mapas de distribución de los parches de macrófitas a lo largo del tramo de estudio en cada estación del año en el arroyo Las Flores. Arriba de izquierda a derecha: (P temprana) primavera temprana, (P tardía) primavera tardía y verano. Abajo de izquierda a derecha: otoño e invierno.

La biomasa total expresada en g POS/m^2 varió entre 322-612 g/m^2 en DLC y entre 556-975 g/m^2 en LF y difirió de manera significativa entre ambos arroyos y entre los diferentes compartimentos basales (Tabla 4.4). Entre todos los compartimentos basales, el epipelón registró los mayores valores de biomasa en g POS/m^2 en ambos arroyos a lo largo de todo el año (265-576 g/m^2 en DLC y 545-972 g/m^2 en LF) y difirió significativamente entre ambos, resultando mayor en LF (Figura 4.3). La biomasa de macrófitas varió de 11,8-55,2 g/m^2 en DLC, siendo máxima en primavera tardía y mínima en verano, mientras que en LF varió entre 1,5 y 14 g/m^2 y fue máxima en verano y mínima en invierno. Al igual que el epipelón, tanto la biomasa de macrófitas como la de epifiton, también difirieron significativamente entre arroyos, pero resultaron ser mayores en DLC. El máximo valor de biomasa de epifiton fue registrado en invierno en DLC (rango: 0,03-1,77 g/m^2) y en primavera temprana en LF (rango: 0,02-0,4 g/m^2) y el mínimo valor fue registrado en primavera tardía en ambos arroyos.

Dado que la determinación de biomasa como POS del epifiton y, principalmente, del epipelón incluye un alto porcentaje de materia orgánica no viva (como detritos y restos de vegetación), también se calculó la biomasa de los biofilm en mg Cl-a/m^2 .

La biomasa de epipelon, medida en mg Cl-a/m², fue siempre mayor y difirió significativamente de la biomasa de epifiton, al comparar los datos de ambos arroyos (Tabla 4.5). Al analizar los datos de cada arroyo por separado se observó que, para DLC, no hubo diferencias entre la biomasa de epipelon y de epifiton a nivel anual, pero existieron diferencias significativas entre las distintas estaciones (Tabla 4.5). Tanto en verano como en otoño la biomasa de epipelon fue significativamente mayor que la de epifiton (Figura 4.4). Para LF, en cambio, la biomasa de epipelon fue significativamente mayor que la de epifiton en todas las estaciones del año (Tabla 4.5, Figura 4.4).

Tabla 4.4. Resultados de los Modelos Lineales Generalizados Mixtos realizados para comparar la biomasa de cada compartimento basal, medida en gramos de peso orgánico seco (POS) por metro cuadrado, en cada arroyo y entre arroyos. Para los dos primeros se utilizó la estación del año y el compartimento basal como efectos fijos, y para el tercero, el arroyo y el compartimento basal.

Biomasa (g POS/m²)				
Arroyo	Fuente de variación	df	<i>F</i>	p
DLC				
	Estación	4	2,88	0,0351
	Compartimento basal	3	219,38	<0,0001
	Interacción	12	3,57	0,0012
LF				
	Estación	4	0,29	0,8818
	Compartimento basal	3	43,87	<0,0001
	Interacción	12	0,31	0,9835
DLC x LF				
	Arroyo	1	13,35	0,0003
	Compartimento basal	3	104,16	<0,0001
	Interacción	3	15,73	<0,0001

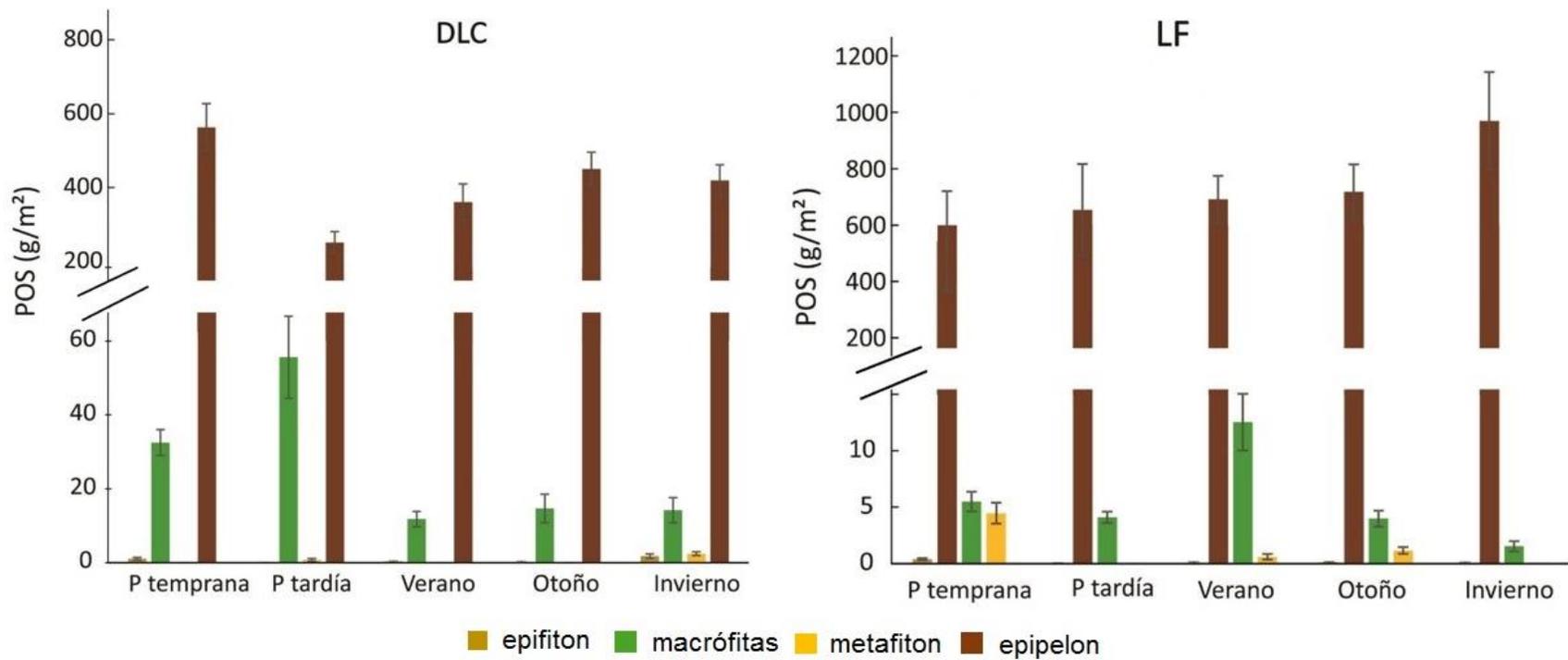


Figura 4.3. Variación estacional de la biomasa (en g POS/m²) de los compartimentos basales en el arroyo De la Cruz (DLC, izquierda) y en el arroyo Las Flores (LF, derecha). Las barras representan las medias y las barras de error son el error estándar.

Tabla 4.5. Resultados de los Modelos Lineales Generalizados Mixtos realizados para comparar la biomasa de epipelon y epifiton, medida en miligramos de clorofila-*a* (Cl-*a*) por metro cuadrado, en cada arroyo y entre arroyos. Para los dos primeros se utilizó la estación del año y el compartimento basal como efectos fijos, y para el tercero, el arroyo y el compartimento basal

Biomasa (mg Cl-<i>a</i>/m²)				
Arroyo	Fuente de variación	df	<i>F</i>	p
DLC				
	Estación	4	8,83	<0,0001
	Compartimento basal	1	3,43	0,0703
	Interacción	4	1,44	0,2354
LF				
	Estación	4	1,8	0,150
	Compartimento basal	1	13,84	0,0006
	Interacción	4	1,46	0,234
DLC x LF				
	Arroyo	1	0,73	0,3936
	Compartimento basal	1	15,35	0,0002
	Interacción	1	1,77	0,1864

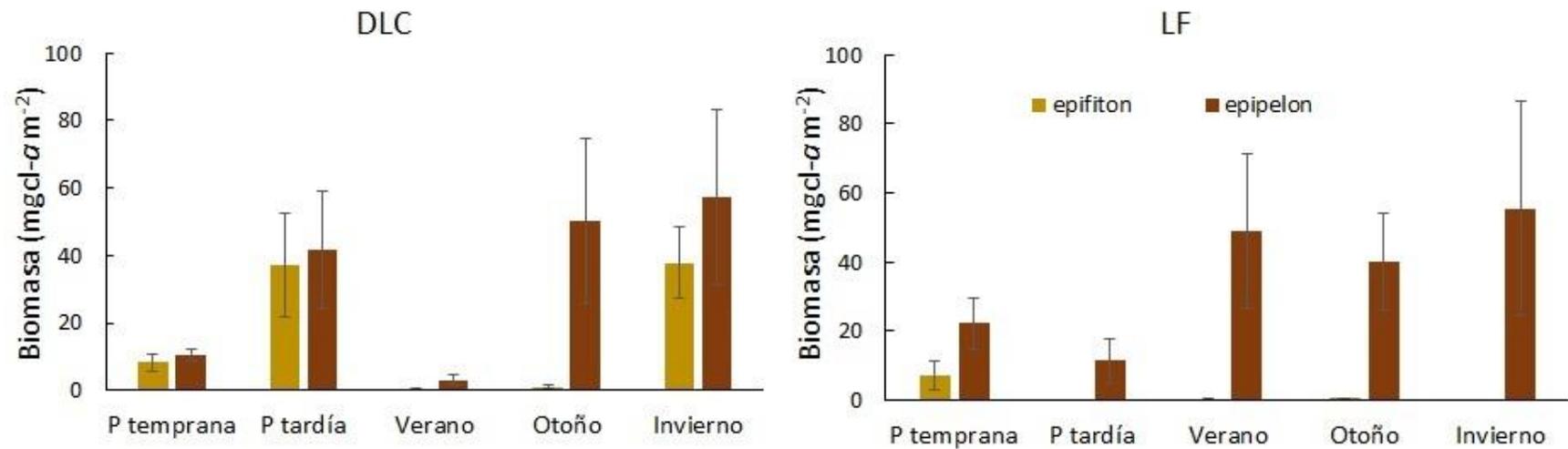


Figura 4.4. Variación estacional de la biomasa (en mg Cl-a/m²) del epipelon y el epifiton en el arroyo De la Cruz (DLC, izquierda) y en el arroyo Las Flores (LF, derecha). Las barras representan las medias y las barras de error son el error estándar.

Metabolismo del ecosistema

Al igual que la temperatura del agua, la radiación fotosintéticamente activa (PAR) varió a lo largo del año en concordancia con lo esperado por la variación anual, siendo máximas en primavera tardía y verano para las fechas de muestreo de ambos arroyos (Tabla 4.6). Sin embargo, la disponibilidad de luz en el fondo del arroyo DLC fue mínima en verano mientras que el valor máximo fue registrado en primavera tardía. En el caso del arroyo LF, el escenario fue exactamente opuesto. La disponibilidad de luz en el fondo de este arroyo fue mínima en primavera tardía y máxima en verano (Tabla 4.6).

El coeficiente de reaeración (k_{O_2}), calculado a través del método de la regresión nocturna (capítulo 3, *metabolismo del ecosistema*), osciló entre 0,0027 y 0,0078 min^{-1} en DLC y entre 0,0028 y 0,0056 min^{-1} en LF, siendo máximo en invierno en ambos arroyos (Tabla 4.6). Las concentraciones de oxígeno disuelto presentaron marcadas oscilaciones diarias en ambos arroyos (Figuras 4.5 y 4.6) y durante todo el año. En especial, las mayores variaciones se registraron en primavera tardía para DLC (2-22 $\text{mg O}_2/\text{L}$) y en primavera temprana para LF (8-25 $\text{mg O}_2/\text{L}$). Como es de esperar, la producción primaria neta (expresada en $\text{gO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ min}^{-1}$) siguió la variación diaria del oxígeno disuelto (OD) (Figuras 4.5 y 4.6).

Las tasas metabólicas fueron elevadas a lo largo del año y la relación P/R fue, en general, mayor a 1 para ambos arroyos, lo que sugiere una dominancia de procesos autotróficos por sobre los heterotróficos (Tabla 4.6). En DLC, la producción primaria bruta (PPB) fue mayor en invierno mientras que en LF fue mayor en primavera temprana (Figura 4.7). En cuanto a la respiración del ecosistema (RE), ésta fue máxima en verano para ambos arroyos, lo que se asociaría a las mayores temperaturas. La producción primaria neta (PPN) fue negativa tanto en verano como en otoño para DLC y en primavera tardía y verano para LF. Esto se vio reflejado en la relación P/R que, en verano para ambos como en otoño en DLC y primavera tardía en LF, resultó ser menor a 1.

Tabla 4.6. Valores estacionales de luz fotosintéticamente activa (PAR) registrada en la estación de la Universidad Nacional de Luján, PAR superficial (PAR sup) registrada sobre la superficie del agua de los arroyos, PAR subsuperficial (PAR subsup) y PAR registrada en el fondo (PAR fondo) de los arroyos con un sensor esférico quantum sumergible, coeficiente de reaeración (k_{O_2}), producción primaria bruta (PPB), respiración del ecosistema (RE), producción primaria neta (PPN) y relación PPN/RE (P/R).

	PAR ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	PAR sup ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	PAR subsup ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	PAR fondo ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	k_{O_2} (1/min)	PPB ($\text{g O}_2 \text{ m}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	RE ($\text{g O}_2 \text{ m}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	PPN ($\text{g O}_2 \text{ m}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	P/R
DLC									
P temprana	4,15	2888,8	1545,6	499,5	0,0045	4,85	1,28	3,57	3,79
P tardía	6,91	2506,5	2160,0	536,0	0,0027	5,64	3,70	1,94	1,52
Verano	5,62	2130,5	1221,4	197,3	0,0069	4,10	7,80	-3,71	0,52
Otoño	4,13	2205,0	1679,9	265,9	0,0050	0,88	1,70	-0,81	0,52
Invierno	2,53	1770,2	979,3	381,2	0,0078	6,52	1,86	4,67	3,51
Media	4,67	2300,2	1517,2	376,0	0,0054	4,40	3,27	1,13	1,97
DS	1,66	420,6	452,0	145,7	0,0020	2,16	2,70	3,40	1,69
LF									
P temprana	4,14	2736,5	1587,6	1227,5	0,0050	7,79	2,35	5,44	3,32
P tardía	6,74	1351,6	1237,2	487,3	0,0049	2,65	3,70	-1,05	0,72
Verano	5,71	2220,0	2190,6	1585,2	0,0041	2,18	3,88	-1,70	0,56
Otoño	3,59	1746,1	1350,3	554,6	0,0028	3,08	2,66	0,42	1,16
Invierno	3,27	1966,7	1732,8	895,5	0,0056	3,30	2,54	0,76	1,30
Media	4,58	2004,2	1619,7	950,0	0,0045	3,80	3,03	0,77	1,41
DS	1,41	518,8	373,7	462,0	0,0011	2,27	0,71	2,80	1,11

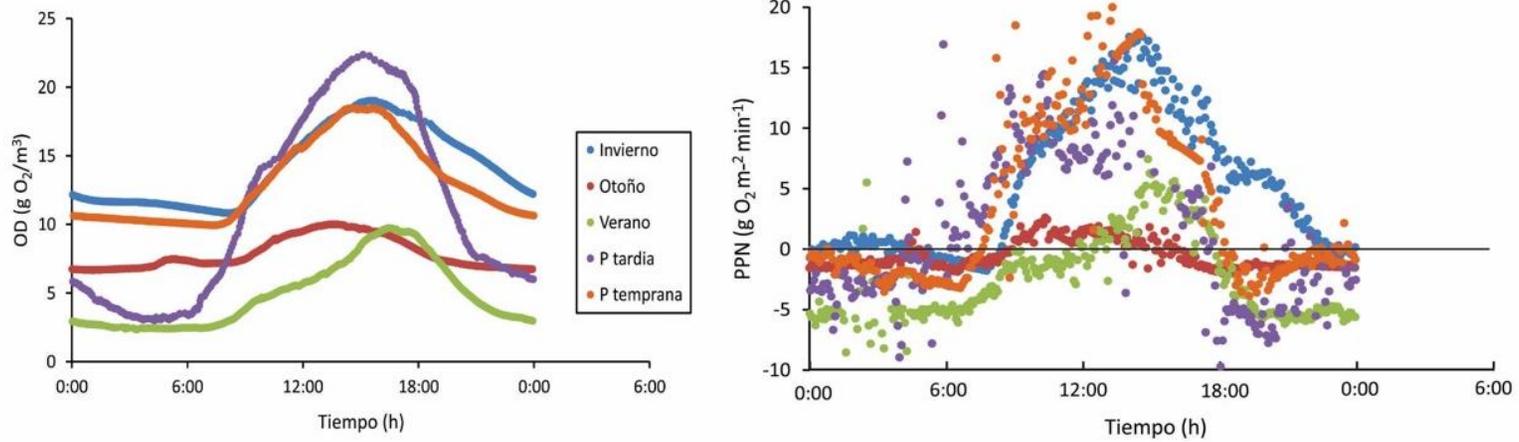


Figura 4.5. Variaciones diarias de la concentración de oxígeno disuelto (OD) (en gO_2/m^3) (derecha) y producción primaria neta (PPN) (en $\text{gO}_2 \text{m}^{-2} \text{min}^{-1}$) (izquierda) en el arroyo De la Cruz en cada estación del año.

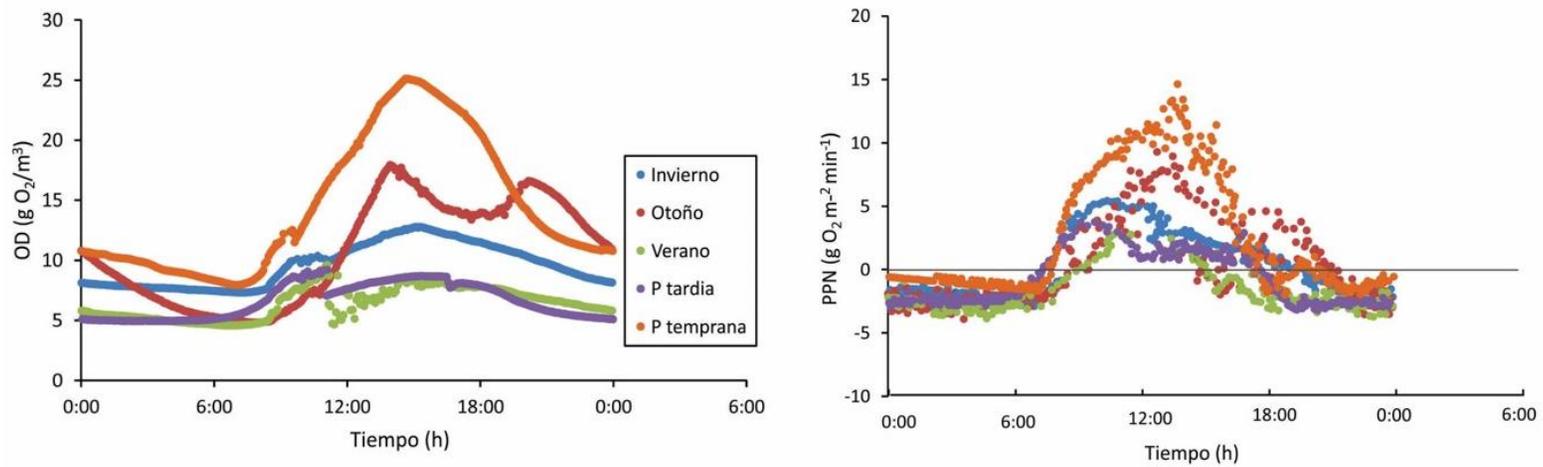


Figura 4.6. Variaciones diarias de la concentración de oxígeno disuelto (OD) (en gO_2/m^3) (derecha) y producción primaria neta (PPN) (en $\text{gO}_2 \text{m}^{-2} \text{min}^{-1}$) (izquierda) en el arroyo Las Flores en cada estación del año.

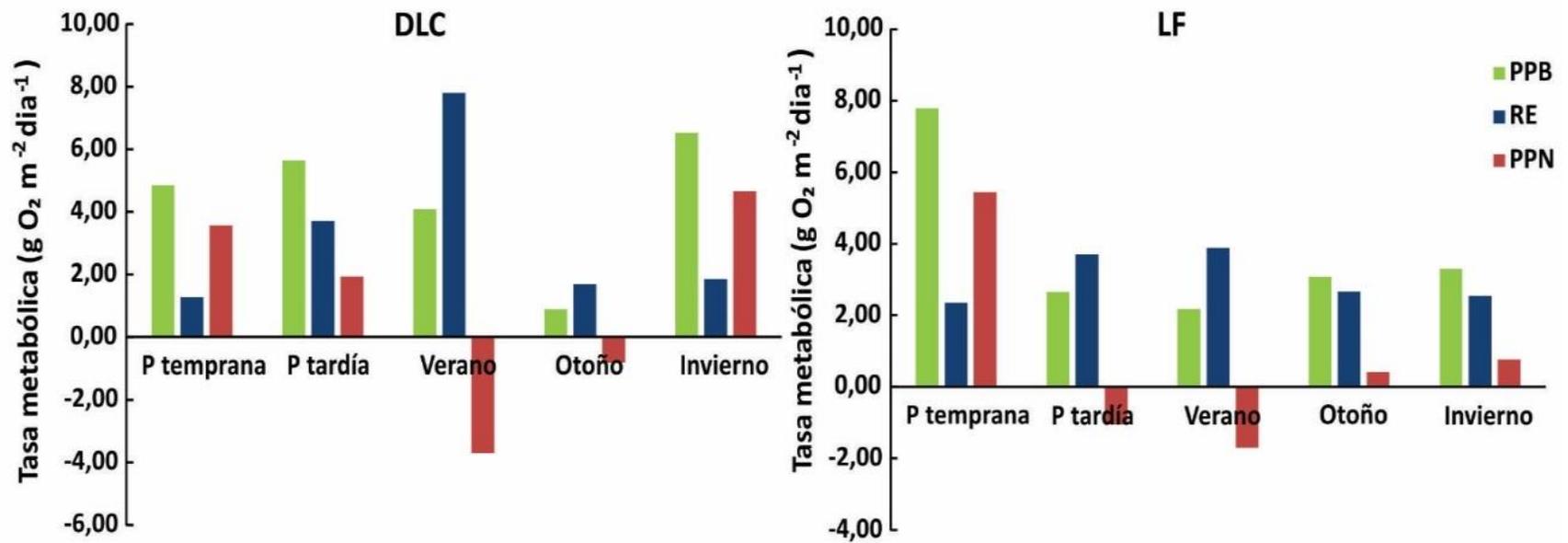


Figura 4.7. Producción primaria bruta (PPB), neta (PPN) y respiración del ecosistema (RE) (medidos en $\text{g O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) a lo largo del año, en el arroyo De la Cruz (DLC, izquierda) y Las Flores (LF, derecha).

Metabolismo de los compartimentos basales

Tanto en DLC como en LF la respiración de las comunidades (RC) difirió significativamente entre los compartimentos basales (Tabla 4.7), y entre las diferentes estaciones del año para LF. El epipelon y las macrófitas presentaron las mayores tasas de respiración durante todo el año en ambos arroyos, siendo el primer compartimento el que presentó mayores tasas y mayor contribución a la respiración en DLC (de 21-88%), excepto en invierno, cuando las macrófitas presentaron una mayor contribución (Figura 4.8 A y B). En LF, en cambio, el epipelon registró los mayores valores y el mayor porcentaje de contribución en primavera tardía, otoño e invierno; mientras que las macrófitas lo hicieron en verano y primavera temprana (Figura 4.9 A y B). La producción primaria bruta de las comunidades (PBC) difirió significativamente entre los compartimentos basales para ambos arroyos (Tabla 4.7) y entre las diferentes estaciones del año para DLC. En LF, el epipelon presentó las mayores tasas de producción y el mayor porcentaje de contribución a la PBC, excepto en verano, cuando las macrófitas presentaron mayor contribución. (Figura 4.9 C y D). En DLC tanto las macrófitas como el epipelon presentaron los mayores valores de PBC alternando su contribución a la producción según las estaciones. En primavera temprana, verano y otoño el epipelon tuvo el mayor porcentaje de contribución a la PBC, mientras que, en primavera tardía e invierno las macrófitas tuvieron una mayor contribución (Figura 4.8 C y D).

Al considerar la suma de todos los compartimentos basales, el mayor valor de PBC fue registrado en otoño para LF y en primavera tardía para DLC (Figura 4.10 A y B), a diferencia de lo registrado mediante el método abierto (máxima PPB en primavera temprana para LF y en invierno para DLC) considerando la misma franja horaria en la que se midió el metabolismo de cámaras y calculando la producción en g de oxígeno por m² por hora (Figura 4.10 C y D). En el caso de la suma de la RC de todos los compartimentos, el mayor valor fue registrado en primavera tardía para ambos arroyos, mientras que con el método abierto resultó máxima en verano (Figura 4.10). El desacoplamiento entre los resultados de metabolismo obtenidos mediante el método cerrado y el abierto hizo que no fuera posible estimar la contribución del hiporreico a la RE.

Tabla 4.7. Resultados de los Modelos Lineales Generalizados Mixtos realizados para comparar la respiración (RC) y la producción bruta (PBC) de cada compartimento basal en cada estación del año y en cada arroyo. Tanto la estación del año como el compartimento basal se utilizaron como efectos fijos.

		RC (g O₂ m⁻²h⁻¹)			PBC (g O₂ m⁻²h⁻¹)		
		df	<i>F</i>	p	df	<i>F</i>	p
Arroyo	Fuente de variación						
DLC							
	Estación	4	2,05	0,1056	4	11,3	<0,0001
	Compartimento basal	3	11,85	<0,0001	3	18,83	<0,0001
	Interacción	12	1,16	0,34	12	4,21	0,0003
LF							
	Estación	4	16,1	<0,0001	4	0,52	0,7245
	Compartimento basal	3	71,92	<0,0001	3	9,42	0,0001
	Interacción	12	19,77	<0,0001	12	1,01	0,4548

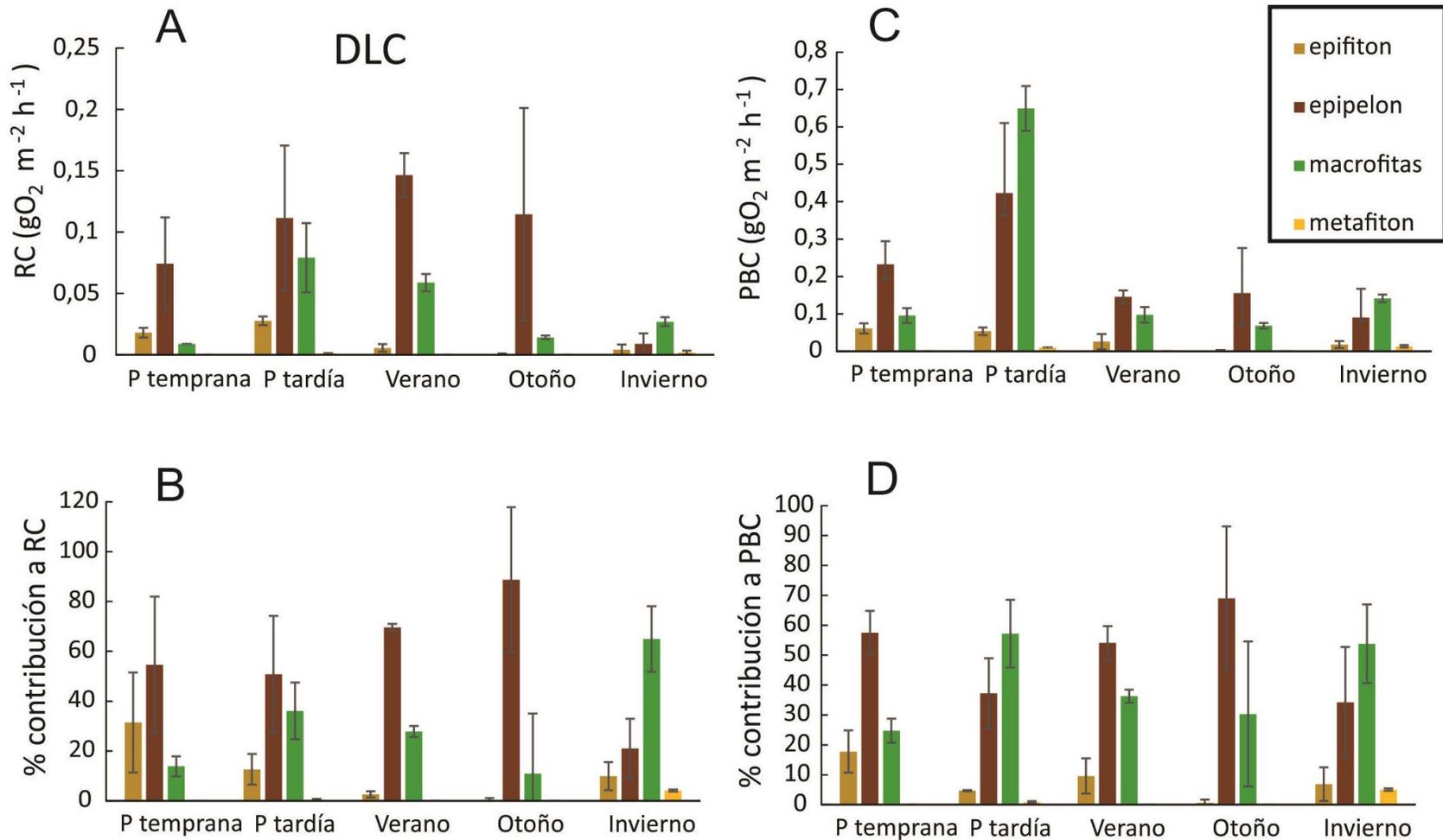


Figura 4.8. Metabolismo de los compartimentos basales en el arroyo De la Cruz y su contribución relativa. A. Respiración de los compartimentos (RC) (en g O₂ m⁻² min⁻¹). B. Producción primaria bruta de los compartimentos (PBC) (en g O₂ m⁻² min⁻¹) en primavera temprana (P temprana), primavera tardía (P tardía), verano, otoño e invierno. Medias (± EE, n = 3). C y D. Contribución relativa (%) de los compartimentos a la respiración (C) y a la producción primaria bruta (D) de los compartimentos basales. Medias (± EE, n = 3).

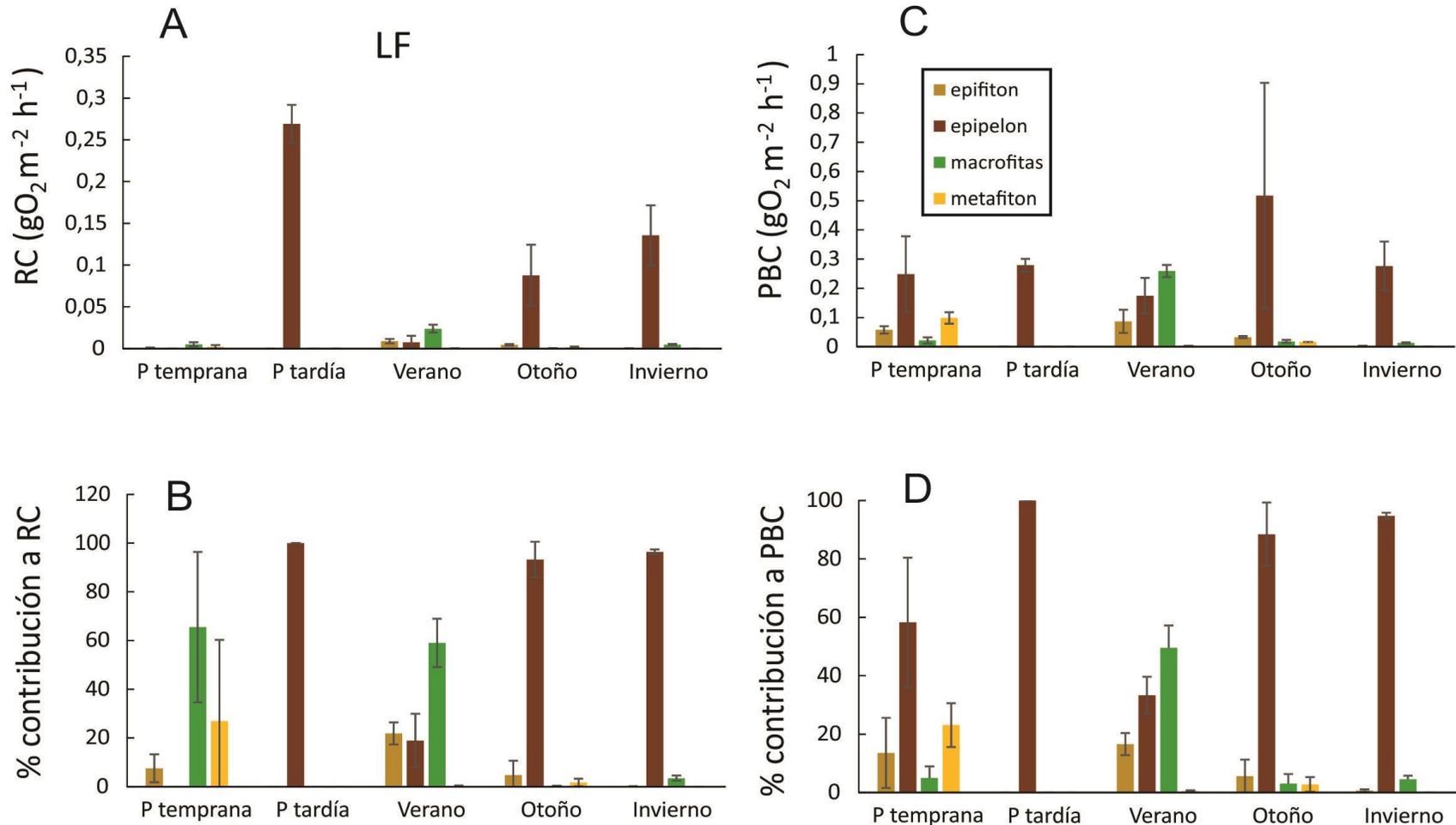


Figura 4.9. Metabolismo de los compartimentos basales en el arroyo Las Flores y su contribución relativa. A. Respiración de los compartimentos (RC) (en $\text{g O}_2 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$). B. Producción primaria bruta de los compartimentos (PPC) (en $\text{g O}_2 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$) en primavera temprana (P temprana), primavera tardía (P tardía), verano, otoño e invierno. Medias (\pm EE, $n = 3$). C y D. Contribución relativa (%) de los compartimentos a la respiración (C) y a la producción primaria bruta (D) de los compartimentos basales. Medias (\pm EE, $n = 3$).

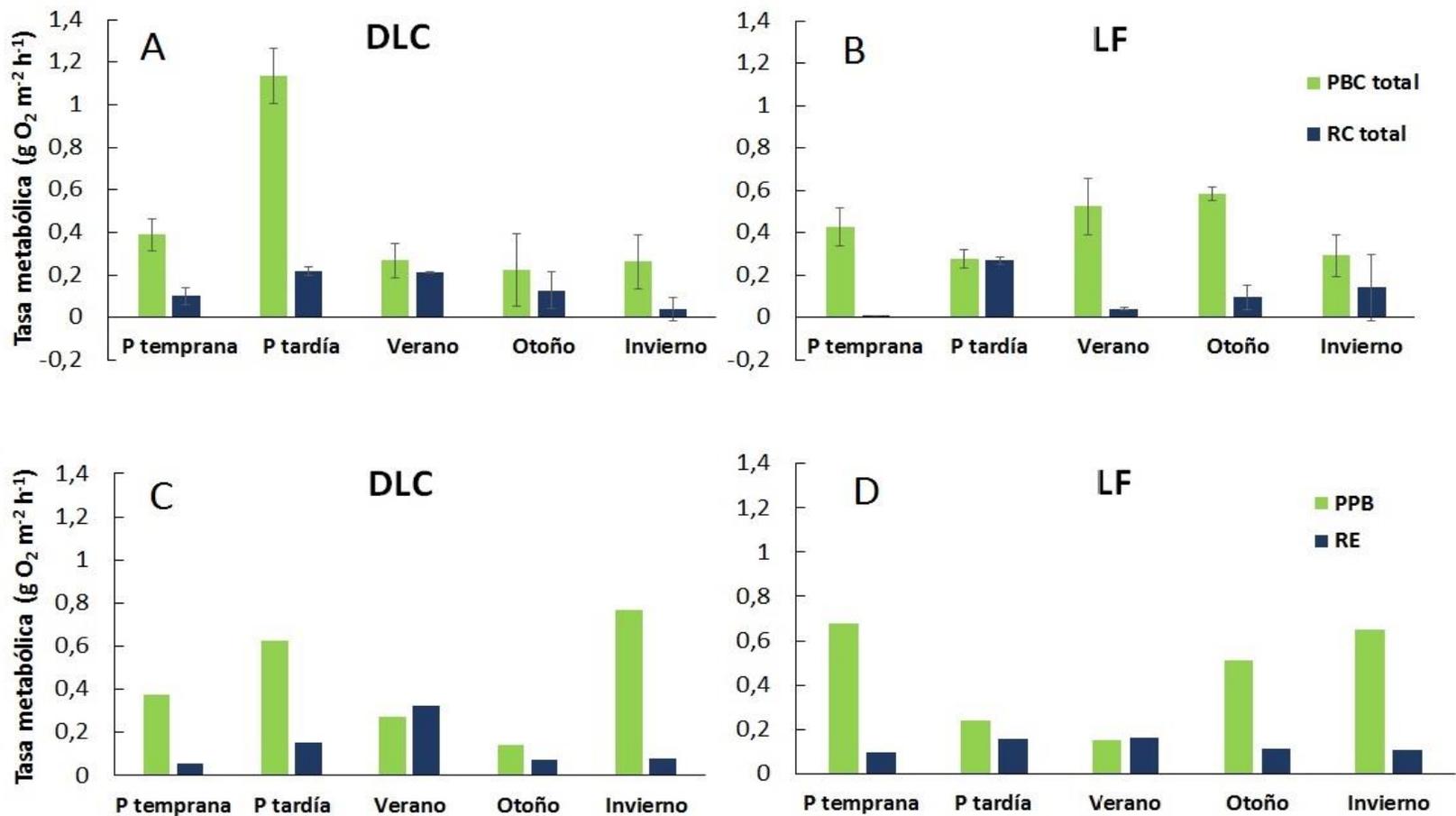


Figura 4.10. Comparación de los metabolismos registrados por ambos métodos. Suma de la Producción primaria bruta de los compartimentos basales (PBC) (en g O₂ m⁻² hora⁻¹) y de la Respiración de los compartimentos (RC) (en g O₂ m⁻² h⁻¹) en primavera temprana (P temprana), primavera tardía (P tardía), verano, otoño e invierno en el arroyo De la Cruz (DLC, A) y en el arroyo Las Flores (LF, B). Medias (± EE, n = 3). Producción primaria bruta (PPB) y respiración del ecosistema (RE) (calculados en g O₂ m⁻² hora⁻¹) para la misma franja horaria en la que se determinó el metabolismo de cámaras a lo largo del año, en el arroyo De la Cruz (C) y en el arroyo Las Flores (D).

Factores que influyen en la retención de nutrientes y modelos de captación

Para analizar los principales factores que influyen en la retención de nutrientes y la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en los arroyos, se agruparon los datos de ambos arroyos de modo de contar con una mayor representación del rango de variación en las concentraciones basales y tener una visión más abarcativa del proceso de retención.

Zona de retención transitoria

Al analizar el área relativa de la ZRT (As/A), se observó una relación lineal negativa entre el caudal y As/A (Figura 4.11). Sin embargo, contrario a lo esperado, no se observó relación entre As/A y la biomasa de macrófitas.

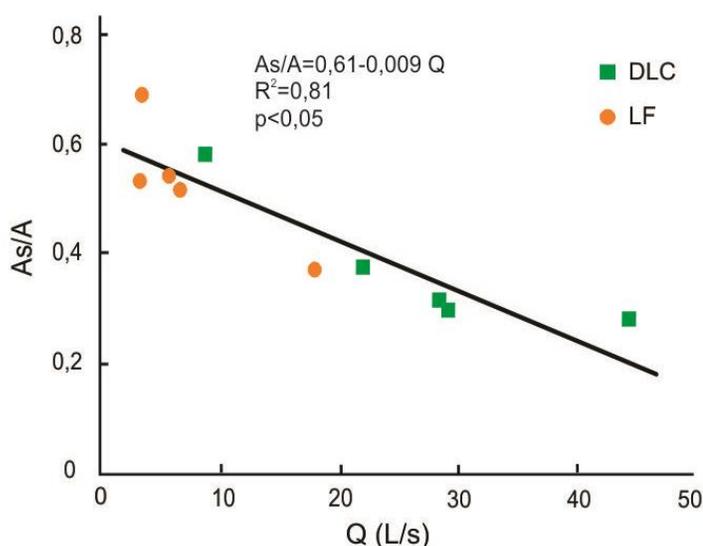


Figura 4.11. Ajuste a una regresión lineal significativo entre el área relativa de la zona de retención transitoria (As/A) y el caudal (Q , en L/s) para los datos combinados de ambos arroyos.

El resto de los parámetros hidrológicos calculados a partir del programa OTIS (capítulo 3, *medición de la espiral de nutrientes-otros parámetros hidrológicos*) no fueron considerados en el análisis de los resultados, de todas maneras, se adjuntan en una tabla como anexo de la presente tesis.

Al estimar las tasas de asimilación por unidad de superficie en base molar (ver capítulo 3, *medición de la espiral de nutrientes-métricas de retención de nutrientes*), se encontró una correlación significativa entre U_{PRS} y $U_{\text{NH}_4^+}$ ($R= 0,83$, $p < 0,05$) (Figura 4.12), pero no se encontraron correlaciones significativas entre $S_{\text{w-PRS}}$ y $S_{\text{w-NH}_4^+}$ ni entre $V_{\text{f-PRS}}$ y $V_{\text{f-NH}_4^+}$ estimados en base molar.

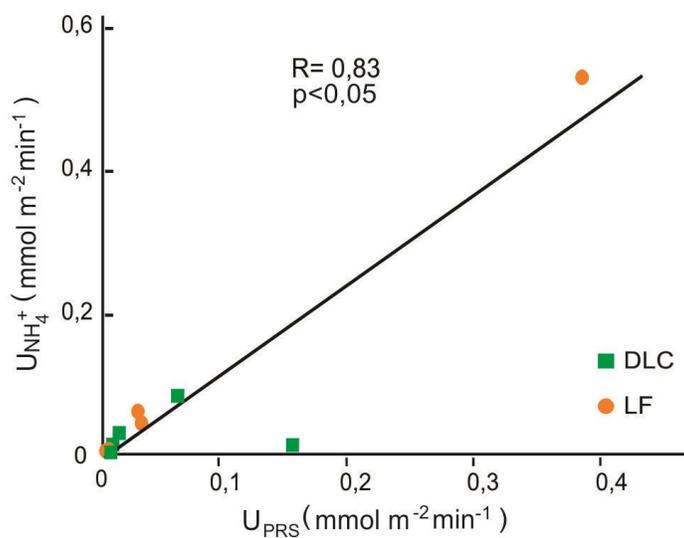


Figura 4.12. Correlación de Spearman significativa entre las tasas de asimilación por unidad de superficie del PRS (U_{PRS}) y del NH_4^+ ($U_{\text{NH}_4^+}$) en base molar (en $\text{mmol m}^{-2} \text{ min}^{-1}$) para los datos combinados de ambos arroyos.

Modelos de captación de nutrientes

Las relaciones entre las métricas de retención y la concentración de nutrientes en el agua en ambos arroyos sugieren que la función de captación no se encuentra saturada a lo largo del amplio gradiente de concentraciones basales observadas. Las relaciones entre U_{PRS} estandarizada por la biomasa de los compartimentos basales y la concentración de PRS ajustaron de manera significativa a un modelo de tipo exponencial para todos los compartimentos basales (Figura 4.13 A, B y C). En el caso de la relación entre $U_{\text{NH}_4^+}$ estandarizada por la biomasa de los compartimentos basales y la concentración de NH_4^+ , el ajuste resultó significativo para el modelo de tipo lineal (Figura 4.13 D, E y F). Entre las variables incluidas en este análisis, sólo el POS del epifiton estuvo correlacionado significativamente, y de manera negativa, tanto con la concentración de PRS como con la de NH_4^+ ($R = -0,67$ y $p = 0,008$, y $R = 0,70$ y $p = 0,003$, respectivamente), por lo que

consideramos que la relación observada es independiente de una posible relación entre la biomasa y las concentraciones basales. Al eliminar del análisis el valor más extremo de concentración de NH_4^+ , la relación entre $U_{\text{NH}_4^+}$ estandarizada por la biomasa y la concentración de NH_4^+ permanece significativa sólo para la biomasa de epipelon ($R^2 = 0,58$, $p = 0,017$).

$S_{w\text{-PRS}}$ ajustó a una relación lineal negativa con la concentración de PRS (Figura 4.14 B, $R^2 = 0,61$, $p = 0,008$) y $V_{f\text{-PRS}}$ a una relación lineal positiva (Figura 4.14 A, $R^2 = 0,32$, $p = 0,09$), aunque con una significación marginal. Ambas relaciones dan un mayor sustento al modelo exponencial encontrado entre la tasa de captación estandarizada por la biomasa de los compartimentos basales y la concentración de PRS. En el caso del modelo lineal o de primer orden, como era de esperar, $V_{f\text{-NH}_4^+}$ y $S_{w\text{-NH}_4^+}$ no mostraron relaciones significativas con la concentración de NH_4^+ (Figura 4.14 C y D).

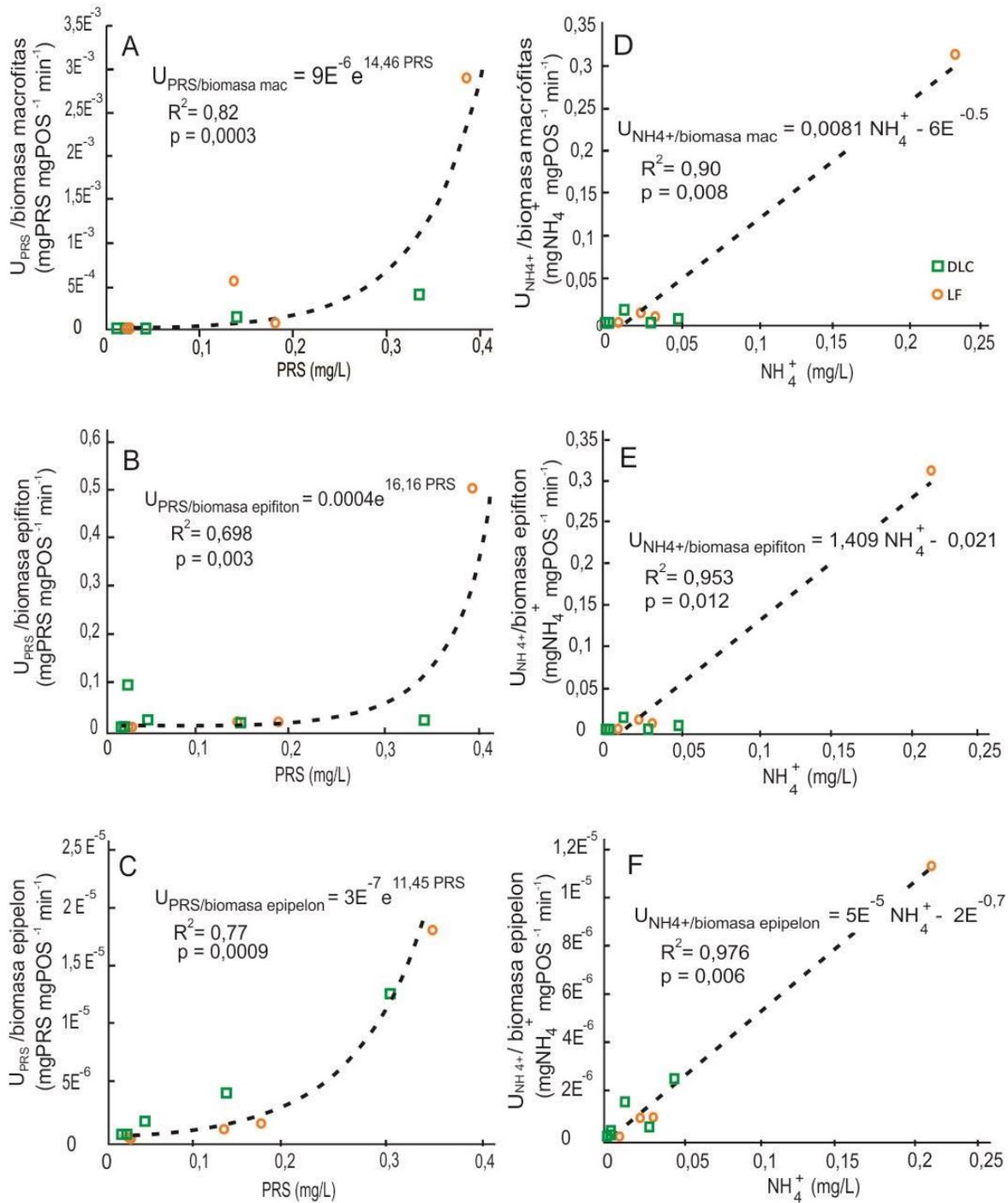


Figura 4.13. Relaciones entre las tasas de asimilación por unidad de superficie (en mg m⁻² min⁻¹) del PRS (U_{PRS}) y del NH₄⁺ ($U_{\text{NH}_4^+}$) (estandarizadas por la biomasa de los diferentes compartimentos basales, expresada en mg POS m⁻²) y las concentraciones de nutrientes. Ajuste significativo al modelo exponencial para la relación entre U_{PRS} estandarizada por la biomasa de macrofitas (mac) (A), por la biomasa de epifiton (B) y por la biomasa de epipelon (C), y la concentración de PRS (en mg/L). Ajuste significativo al modelo lineal para la relación entre $U_{\text{NH}_4^+}$ estandarizada por la biomasa de macrofitas (mac) (D), por la biomasa de epifiton (E) y por la biomasa de epipelon (E), y la concentración de NH₄⁺ (en mg/L).

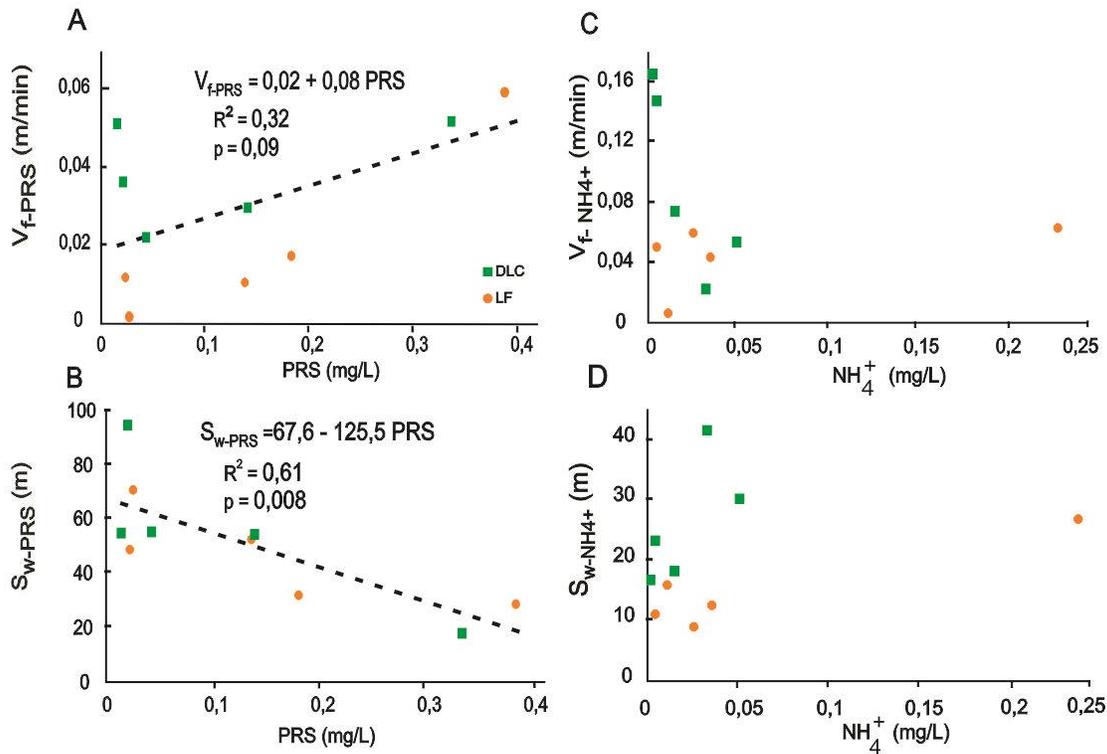


Figura 4.14. Relaciones entre las métricas de retención y la concentración basal de nutrientes que sustentan el modelo exponencial para el PRS y el de primer orden para el NH_4^+ . Ajuste lineal significativo para la relación entre $V_{f\text{-PRS}}$ (en m/min) (A), (B) $S_{w\text{-PRS}}$ (m), y la concentración de PRS (en mg/L). Falta de relación entre $V_{f\text{-NH}_4^+}$ (en m/min) (C) y $S_{w\text{-NH}_4^+}$ (m) (D) y la concentración de NH_4^+ (en mg/L).

Factores que influyen en la retención de nutrientes

Al analizar qué factores influyen en la captación de PRS, se observó que U_{PRS} y el % de retención de PRS se asociaron positivamente con la temperatura ($R = 0,80$ y $p = 0,005$, y $R = 0,71$ y $p = 0,021$, respectivamente) mientras que $S_{w\text{-PRS}}$ se asoció negativamente con esta variable ($R = -0,71$ y $p = 0,021$) (Figura 4.15 A, B y C). El IA del epifiton se asoció positivamente con U_{PRS} y negativamente con $S_{w\text{-PRS}}$ ($R = 0,75$ y $p = 0,013$, y $R = -0,70$ y $p = 0,025$) (Figura 4.15 D y E). Entre las variables metabólicas, la PN del epipelon se asoció negativamente con U_{PRS} ($R = -0,71$ y $p = 0,022$), $V_{f\text{-PRS}}$ ($R = -0,81$ y $p = 0,005$), y el % de retención de PRS ($R = -0,67$ y $p = 0,033$). U_{PRS} disminuyó con el aumento de la PNE y con el aumento de la relación P/R ($R = -0,76$ y $p = 0,011$, y $R = -0,68$ y $p = 0,029$, respectivamente) (Figura 4.15 F, G y H). Por otro lado, U_{PRS} resultó ser altamente variable cuando $P/R < 1$, pero mostró bajos valores cuando $P/R > 1$ (Figura 4.15 I). P/R y la temperatura se correlacionaron negativamente mientras que la temperatura y la

retención (U_{PRS} y el % de retención de PRS) se correlacionaron positivamente, lo que indica que, en los momentos del año en que la temperatura fue más alta, el ecosistema resultó ser más heterotrófico y la retención fue mayor. En este sentido, también se observó una relación similar entre el IA del epifiton y P/R y entre la PNE y P/R. El IA del epifiton y P/R se correlacionaron de forma negativa, indicando que cuando el ecosistema fue más heterotrófico el IA del epifiton resultó ser mayor y U_{PRS} aumentó. La PNE y P/R se asociaron positivamente y, por lo tanto, cuando el ecosistema fue más autotrófico, U_{PRS} disminuyó.

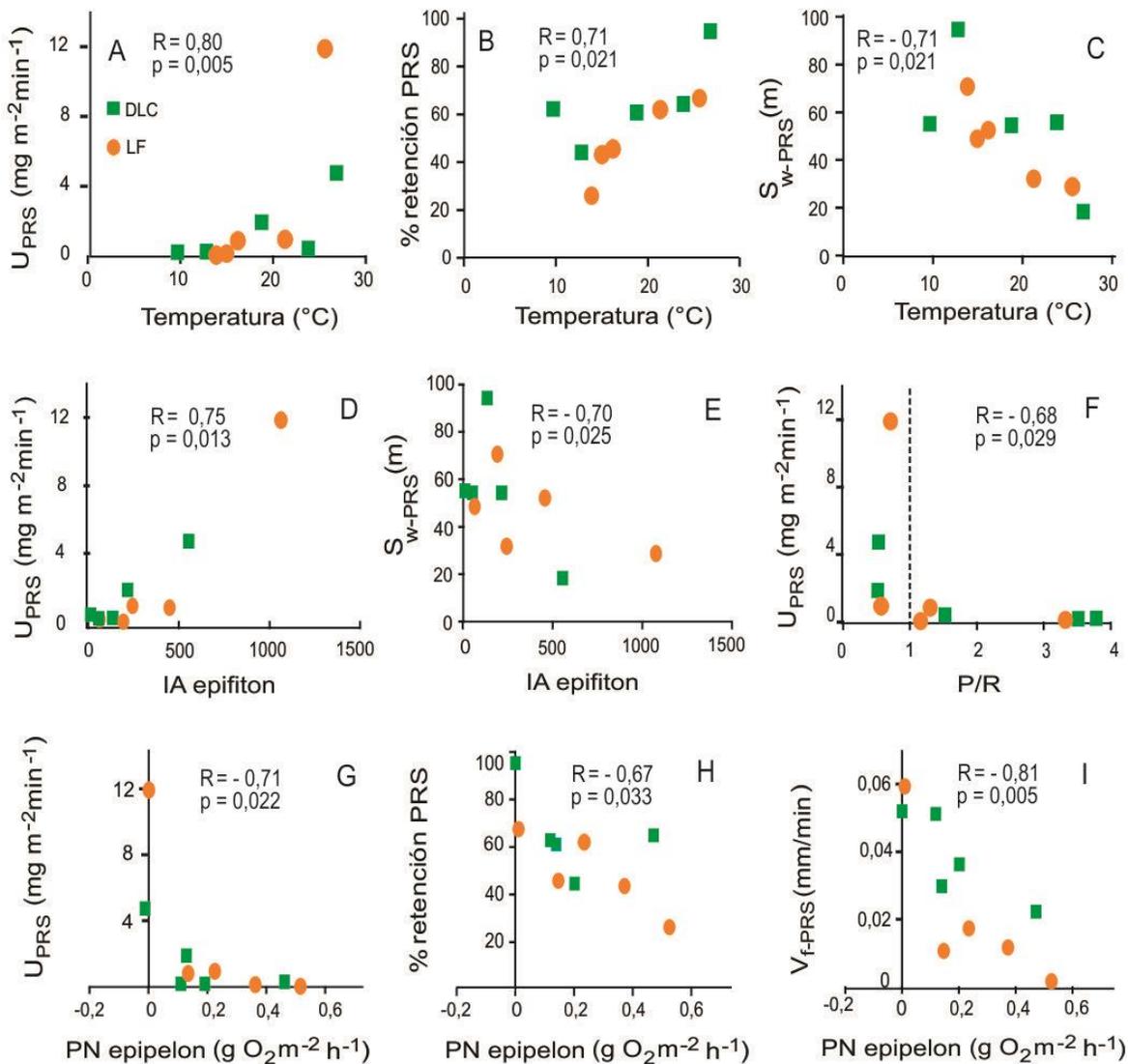


Figura 4.15. Factores abióticos, biológicos y metabólicos asociados con las métricas de retención del PRS en ambos arroyos. Correlaciones de Spearman significativas entre la temperatura del agua (en °C) y U_{PRS} (en mg m⁻² min⁻¹) (A), el % de retención de PRS (B) y S_{w-PRS} (en m) (C). Correlaciones entre el índice autotrófico del epifiton (IA) y U_{PRS} (D) y S_{w-PRS} (E). Correlación entre U_{PRS} y P/R (F). Correlaciones entre la producción neta (PN) del epipelon (medida en g O₂ m⁻² h⁻¹) y U_{PRS} (G), el % de retención de PRS (H) y V_{f-PRS} (en mm/min) (I).

Los factores correlacionados con la retención de NH₄⁺ incluyeron al caudal y al caudal específico (relación entre el caudal y el ancho medio del arroyo, Q/w; Figura 4.16 A) que correlacionaron de forma positiva con V_{f-NH4+} ($R = 0,77$ y $p = 0,009$ y $R = 0,82$ y $p = 0,009$, respectivamente). V_{f-NH4+} también se asoció negativamente con As/A ($R = -0,85$ y $p = 0,002$, datos no mostrados), reflejando posiblemente, la relación negativa observada

entre el caudal y As/A (Figura 4.11). La biomasa autotrófica del epipelon (expresada como $mg\ Cl-a/m^2$) mostró una relación positiva con el porcentaje de retención de NH_4^+ ($R = 0,65$ y $p = 0,043$) (Figura 4.16 B). Con respecto a las variables metabólicas, $S_{w-NH_4^+}$ aumentó con la R del epipelon ($R = 0,66$ y $p = 0,038$), mientras que $V_{f-NH_4^+}$ fue mayor con el incremento de la relación P/R ($R = 0,64$ y $p = 0,048$) (Figura 4.16 C y D).

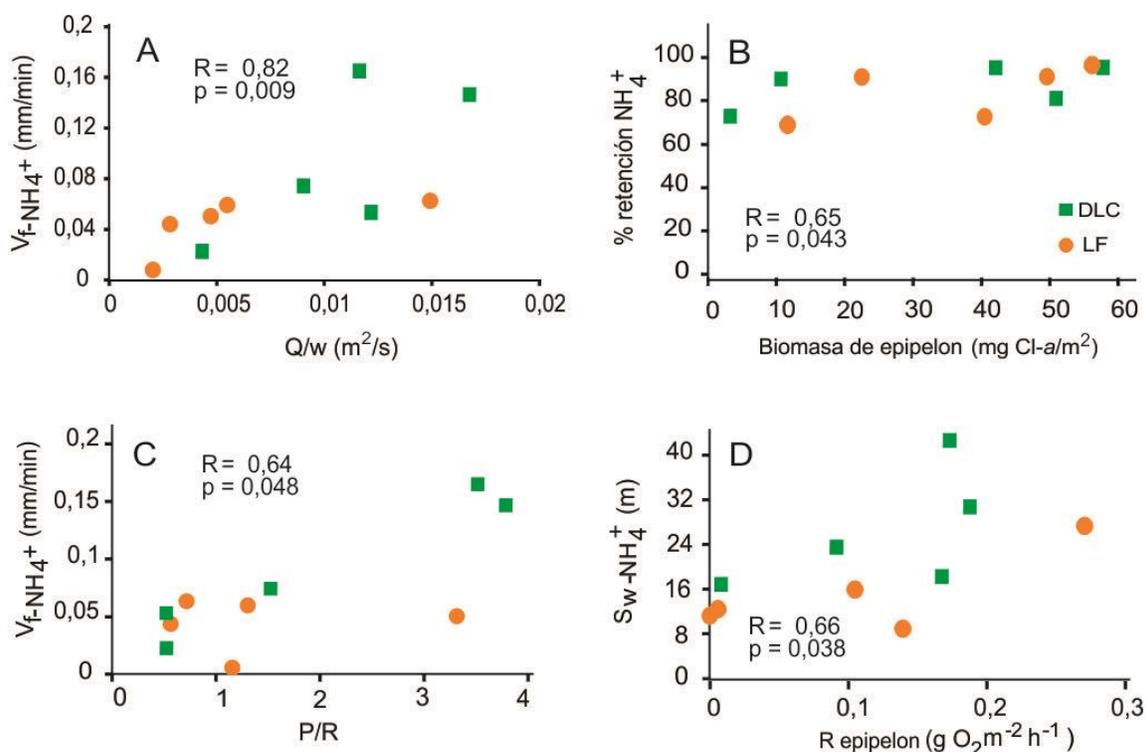


Figura 4.16. Factores abióticos, biológicos y metabólicos asociados con las métricas de retención del NH_4^+ en ambos arroyos. Correlaciones de Spearman significativas entre el caudal específico (Q/w , en $m^2\ s^{-1}$) y $V_{f-NH_4^+}$ (en mm/min) (A), el % de retención de NH_4^+ y la biomasa de epipelon (medida en $mg\ Cl-a\ m^{-2}$) (B), $V_{f-NH_4^+}$ y P/R (C) y S_{w-PRs} (en m) y la respiración del epipelon medida en $g\ O_2\ m^{-2}\ h^{-1}$) (D).

Por otro lado, durante las adiciones se observó un aumento de la concentración de nitritos asociado a la disminución de NH_4^+ . Sin embargo, no se observaron cambios en la concentración de nitratos; por lo tanto, la nitrificación sólo se consideró en términos de ganancia de nitritos (capítulo 3, *medición de la espiral de nutrientes-métricas de retención de nutrientes*). Los datos sugieren que la nitrificación estimada en LF representó entre un 8 y un 43% del total de la retención de NH_4^+ a lo largo del año. En DLC, la nitrificación fue muy baja en verano ($< 1\%$), pero varió entre un 22 y un 37% en las otras estaciones.

Discusión

Nuestros resultados muestran que a pesar de las altas concentraciones basales de nutrientes, tanto la retención de fosfato (como PRS) como la de amonio fueron elevadas en comparación con estudios previos (Tabla 4.3) y que, en el rango de concentraciones observadas, no hubo saturación para ambos nutrientes. $U_{\text{NH}_4^+}$ estandarizado por la biomasa ajustó a un modelo de primer orden para todos los compartimentos basales (O'Brien *et al.* 2007), pero la relación entre U_{PRS} estandarizado por la biomasa y la concentración de PRS tuvo un mejor ajuste a un modelo de tipo exponencial (Figura 4.13). Así mismo, la relación entre $V_{\text{f-PRS}}$ y la concentración de PRS aumentó linealmente mientras que $S_{\text{w-PRS}}$ disminuyó linealmente con el aumento de la concentración de PRS, validando al modelo de tipo exponencial. Los modelos que describen la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en arroyos (O'Brien *et al.* 2007) asumen, o bien la saturación (a través de una cinética de captación del tipo Michaelis-Menten), una pérdida de la eficiencia (expresada como V_f) con el aumento de la concentración de nutrientes o, directamente, la ausencia de variación en la eficiencia del procesamiento de nutrientes con el aumento de la concentración. Sin embargo, nuestros resultados sugieren una mayor eficiencia en la captación de fosfato para niveles de PRS mayores, con una relación entre U_{PRS} estandarizada por la biomasa y la concentración de PRS que ajusta a un modelo exponencial.

Métricas de retención de nutrientes en arroyos pampeanos

Las métricas de retención estimadas en este estudio resultaron altas al ser comparadas con los datos obtenidos en otros sistemas fluviales del mundo (Tabla 4.3). En ambos arroyos, $S_{\text{w-PRS}}$ se encuentra dentro de los rangos registrados para arroyos prístinos (Marcé y Armengol 2009) y para arroyos del mismo orden (Ensign y Doyle 2006). Sin embargo, en nuestro estudio, $V_{\text{f-PRS}}$ resultó ser un orden de magnitud mayor y U_{PRS} dos órdenes de magnitud más altos que los valores presentados por otros autores. La misma situación fue observada para la retención de NH_4^+ , siendo los valores de $S_{\text{w-NH}_4^+}$ más bajos y los de $V_{\text{f-NH}_4^+}$ y $U_{\text{NH}_4^+}$ más altos que los reportados por Ensign y Doyle (2006) y por Hall *et al.* (2013). Al comparar los datos con arroyos impactados, que presentan altos niveles basales de nutrientes y donde las longitudes de captación se encuentran generalmente, en el

orden de los kilómetros (Martí *et al.* 2004, Haggard *et al.* 2005, Marcé y Armengol 2009); las diferencias son aún mayores. Las métricas de retención determinadas en este trabajo de tesis fueron similares a las estimadas tanto para el arroyo LF río abajo de nuestro sitio de estudio, como para otros arroyos pampeanos (Feijoó *et al.* 2011, Rodríguez Castro 2015) (Tabla 4.3). Por consiguiente, nuestros resultados confirman la evidencia previa sobre la alta eficiencia en el procesamiento de nutrientes en arroyos de la región.

La fuerte relación observada entre U_{PRS} y $U_{\text{NH}_4^+}$ en base molar indica que los ciclos de P y N se encuentran fuertemente acoplados (Gibson y O'Reilly 2012). Esta estrecha relación entre las captaciones de N y P pone de manifiesto la importancia de considerar la teoría de la estequiometría ecológica en el análisis de la dinámica de nutrientes en arroyos (Gibson y O'Reilly 2012). En particular, esto será especialmente relevante en sistemas eutróficos donde el problema de los organismos no es cubrir su demanda de nutrientes para el crecimiento y la reproducción (dados los elevados niveles de nutrientes basales), sino para regular su contenido elemental interno (Feijoó *et al.* 2014).

Factores que influyen en la retención de nutrientes

El almacenamiento transitorio ha sido propuesto como uno de los factores determinantes de la retención de nutrientes ya que en estas zonas específicas, el agua se mueve a velocidades menores, permitiendo la exposición de los solutos a sustratos biogeoquímicamente reactivos (Webster *et al.* 2003). Sin embargo, en una revisión sobre espirales de nutrientes, Ensign y Doyle (2006) encontraron poca evidencia a favor de una relación causal entre el almacenamiento transitorio y la retención de nutrientes. Asimismo, se ha propuesto que en los arroyos dominados por macrófitas, el área relativa de la zona de retención transitoria está asociada al crecimiento de las plantas que induce, a su vez, cambios en el caudal y en los patrones de intercambio con el hiporreico (Salehin *et al.* 2003, Gücker y Boechat 2004).

Debido a la alta biomasa de plantas acuáticas que usualmente presentan los arroyos pampeanos, se esperaba una clara asociación entre el área relativa de la ZRT y la biomasa de macrófitas así como también una marcada asociación entre el desarrollo de la ZRT y la retención de nutrientes. Sin embargo, y en concordancia con los resultados de Ensign y Doyle (2006), no encontramos una relación significativa entre As/A y las métricas de retención o la biomasa de macrófitas. Nuestros datos indican que As/A está asociada con el

caudal, sugiriendo que, en estos arroyos, el almacenamiento transitorio está principalmente impulsado por la hidrología y no dependería de la abundancia de la vegetación acuática o del desarrollo de la zona hiporreica. Por otro lado, las métricas de retención tampoco se asociaron con la biomasa de macrófitas. En consecuencia, nuestros resultados no apoyan nuestra hipótesis de que la retención de nutrientes depende del caudal y del área relativa de la zona de retención transitoria, área que depende a su vez de la abundancia de macrófitas.

Con la excepción de V_{f-PRS} , todas las métricas de retención de PRS se asociaron positivamente con la temperatura. U_{PRS} se asoció positivamente al IA del epifiton (mientras que S_{w-PRS} se asoció negativamente) y la tasa y la eficiencia de captación de PRS disminuyeron con el aumento de la producción del epipelon. Estos resultados sugieren que la captación de PRS estará favorecida por la presencia de biofilm epifíticos más heterotróficos y biofilm epipélicos menos productivos. A su vez, la tasa de retención de PRS resultó ser mayor bajo condiciones más heterotróficas ($P/R < 1$). La correlación positiva entre las métricas de retención de PRS y la temperatura, la heterotrofia del epifiton y la heterotrofia del ecosistema sugieren que en los arroyos estudiados la captación de PRS estaría dominada por la demanda heterotrófica. Este es un resultado inesperado, ya que, teniendo en cuenta la abundancia de macrófitas y la esperada naturaleza autotrófica de los arroyos pampeanos, se esperaba un efecto significativo de la actividad de los productores primarios sobre la retención de PRS. Sin embargo, la influencia de la demanda autotrófica de fósforo no puede ser descartada por completo. La tasa de retención de PRS estandarizada por la biomasa mostró relaciones similares con la concentración basal de PRS para todos los compartimentos basales, lo que sugiere una covariación de la captación de PRS y la abundancia de las comunidades ante el aumento de la concentración basal. Por lo tanto, nuestros resultados indican que la retención de PRS dependería principalmente de la demanda heterotrófica, aunque es posible que los autótrofos también contribuyan en la captación total de PRS. Debe tenerse en cuenta que nuestro análisis de regresión se hizo con un bajo número de muestras ($n = 10$), y que es posible que algunas relaciones entre las métricas de captación y los posibles determinantes de la retención de nutrientes se perdieran debido a la baja replicación.

Según nuestros resultados, $V_{f-NH_4^+}$ aumentó con el caudal y con el caudal específico (Q/w), lo que sugiere una mayor eficiencia en la captación de NH_4^+ a caudales más

elevados. Generalmente, ha sido observado que S_w del nitrógeno y del fósforo aumentan con el caudal (Valett *et al.* 1996, Peterson *et al.* 2001, Hall *et al.* 2002, Niyogi *et al.* 2004; Marcé y Armengol 2009) y con el caudal específico (Hall *et al.* 2009), pero no se han reportado asociaciones entre V_f y el caudal o el caudal específico (Hanafi *et al.* 2006; Marcé y Armengol 2009). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las velocidades de corriente en los arroyos pampeanos son muy bajas y un aumento en el caudal puede favorecer el intercambio de nutrientes entre la columna de agua y los sustratos biogeoquímicamente reactivos, aumentando la eficiencia del proceso de captación. La captación de NH_4^+ se asoció positivamente (a través del % de retención) con la biomasa autotrófica del epipelon (expresada en mg Cl-a) y negativamente (a través de S_w) con la respiración del epipelon, mientras que la eficiencia de retención de NH_4^+ aumentó con el grado de autotrofia del ecosistema. Por lo general, los estudios previos reportan un acoplamiento entre el procesamiento de NH_4^+ y el metabolismo (Hall y Tank 2003, Gücker y Pusch 2006, Rasmussen *et al.* 2011, Cohen *et al.* 2013), y existe un considerable número de trabajos que sugieren que los autótrofos desempeñan un papel dominante en la captación de nitrato en los arroyos (Fellows *et al.* 2006, Valett *et al.* 2008). Sin embargo, algunos autores no encontraron ninguna relación entre la PPB, la RE o el índice P/R y la captación de NH_4^+ (von Schiller *et al.* 2008, O'Brien *et al.* 2014). Nuestros resultados sugieren que la retención de NH_4^+ aumenta bajo condiciones más autotróficas y que la fracción autotrófica del epipelon podría tener una mayor influencia sobre esta función respecto a otros compartimentos basales.

Los experimentos de adición no permiten separar la captación autotrófica directa de otros procesos de remoción de N mediados por bacterias, tales como la nitrificación o la denitrificación. De acuerdo con nuestros datos, la nitrificación podría explicar hasta cerca de un 40% de la retención total de NH_4^+ en estos arroyos, en algunos períodos del año. Por ende, es posible que los biofilm heterotróficos también influyan en la retención de NH_4^+ a través de la captación directa o mediante la nitrificación, pero en un grado proporcionalmente menor en comparación con la demanda autotrófica. De todas maneras, serían necesarios nuevos estudios que exploraran el proceso de nitrificación de forma particular, midiéndolo de manera directa. De este modo se podrá discriminar si realmente

es un factor que determina una parte importante de la retención de amonio en los arroyos estudiados y bajo qué condiciones es más significativo.

Por otro lado, en cuanto a la denitrificación, este también podría ser un proceso que influye en la remoción de una fracción del amonio adicionado. Condiciones de fondos anóxicos o suboxigenados han sido registradas en los arroyos pampeanos durante la noche (tanto en los sedimentos como en el agua) indicando un escenario plausible para la denitrificación (Acuña *et al.* 2011, Cochero *et al.* 2013). Por consiguiente, es posible que parte del amonio adicionado sea denitrificado en el fondo de los arroyos estudiados durante la noche. De todas maneras, en el presente estudio se han analizado los factores que influyen en la retención de amonio y fosfato a corto plazo, es decir, dentro del lapso en el que se desarrollaron las adiciones, por lo que es posible que en ese lapso de tiempo la denitrificación no resultara ser un proceso significativo. Algo similar sucede con la influencia de los procesos de descomposición del material autóctono presente en estos arroyos. Este proceso suele ser muy importante en los arroyos pampeanos y podría modificar considerablemente el análisis llevado a cabo al estudiar la dinámica de retención del amonio y el fosfato a largo plazo.

Falta de saturación en la captación de nutrientes

Las tasas de captación de PRS y NH_4^+ estandarizadas por la biomasa de los compartimentos basales aumentaron con la concentración de nutrientes pero siguiendo diferentes modelos. La tasa de captación de NH_4^+ ajustó a un modelo lineal, mientras que $V_{\text{f-NH}_4^+}$ y $S_{\text{w-NH}_4^+}$ no presentaron cambios consistentes con la concentración de NH_4^+ . Al combinar datos de diferentes arroyos con altas abundancias de macrófitas presentes en la literatura, Levi *et al.* (2015) observaron una relación lineal entre $U_{\text{NH}_4^+}$ y la concentración de NH_4^+ . Sin embargo, debe tenerse en cuenta que nosotros adicionamos NH_4^+ y no nitrato, que es la forma predominante de nitrógeno en los sistemas acuáticos. En teoría, el NH_4^+ es una fuente de nitrógeno de menor costo energético y, por lo tanto, será preferida por sobre el nitrato para cubrir la demanda autotrófica (Feijoó *et al.* 2002, Oviedo-Vargas *et al.* 2013). Por lo tanto, es posible que el sistema alcanzara la saturación si se hubiera añadido nitrato en lugar de NH_4^+ . En el caso del PRS, U_{PRS} estandarizada por la biomasa de los compartimentos basales aumentó de manera exponencial con la concentración de PRS, lo que sugiere que el sistema está muy por debajo de la saturación (Earl *et al.* 2006). Cabe

señalar que al estandarizar las tasas de captación por la biomasa no asumimos que todos los compartimentos son funcionalmente equivalentes, como ya se ha indicado en el capítulo 3. A pesar de esto, la relación entre U_{PRS} estandarizada por la biomasa y la concentración de PRS ajustó a un modelo exponencial para todos los compartimentos basales, y lo mismo ocurrió con el NH_4^+ y el ajuste a un modelo de primer orden.

En investigaciones anteriores se ha demostrado que la eficiencia de retención de nutrientes en arroyos disminuye bajo una alta carga de nutrientes debido a una saturación en la función de captación de las comunidades biológicas (Martí *et al.* 2004, Hoellein *et al.* 2007, Mulholland *et al.* 2008, Marcé y Armengol 2009, O'Brien y Dodds 2010). Ribot *et al.* (2013) compararon la cinética de captación de los biofilm de dos arroyos con diferentes concentraciones basales de nitrógeno. En este estudio se observó que la saturación en la captación de NH_4^+ ocurrió a tasas más bajas en el arroyo con concentraciones de nitrógeno menores que en de mayor contenido de nitrógeno, y se llegó a la conclusión de que la capacidad de respuesta de los biofilm a los aumentos a corto plazo en la concentración de nutrientes era determinada por la concentración de nutrientes del ambiente en el que se desarrollan. Es posible que un mecanismo similar pueda explicar la falta de saturación en la retención de PRS y NH_4^+ que hemos observado en los arroyos estudiados.

Otra posible explicación a la falta de saturación en la captación de nutrientes podría estar relacionada con la presencia de varios compartimentos basales, característicos de los arroyos pampeanos (Giorgi *et al.* 2005, Feijoó *et al.* 2014) y con la alta diversidad funcional de las especies presentes en ellos. Existe evidencia experimental de que las comunidades acuáticas con un mayor número de especies aprovechan mejor las oportunidades de nicho que aquellas que poseen menor riqueza. Esto se debe a que la coexistencia de diferentes especies que se adaptan mejor a distintos hábitats permite el desarrollo de sistemas más diversos para captar una mayor proporción de nutrientes (Cardinale 2011). Es decir, que la existencia de compartimentos basales con una determinada composición de especies que posean una mayor diversidad funcional podría favorecer la captación de nutrientes. Más aún, Levi *et al.* (2015) propusieron que los arroyos ricos en macrófitas son capaces de procesar mayores concentraciones de NH_4^+ antes de que la captación se sature en relación a los arroyos que no poseen macrófitas. Es

posible que, en los arroyos pampeanos, donde la diversidad biótica y la cobertura de macrófitas son altas, estén operando mecanismos como los descritos anteriormente.

Adicionalmente, al analizar la relación entre la concentración de nutrientes y la tasa de captación de nutrientes estandarizada por la biomasa de los compartimientos basales, se observó que todos los compartimientos mostraron un comportamiento similar (lineal para NH_4^+ y exponencial para PRS) (Figura 4.13). Esto sugiere que todos los compartimientos basales respondieron de manera similar a los aumentos de nutrientes. En consecuencia, esto nos lleva a plantear la hipótesis de que la alta captación de nutrientes se mantiene no sólo por la alta diversidad dentro de cada compartimiento basal, sino también por la alternancia de estos compartimientos a lo largo del año. Por lo tanto, las diferentes comunidades basales podrían estar ejerciendo un 'efecto compensatorio' en la captación de nutrientes, y cuando una comunidad disminuye su demanda de nutrientes, la actividad de otra comunidad podría compensar esta pérdida en la función de captación.

Para resumir, se proponen dos posibles explicaciones (que no son mutuamente excluyentes) al aumento de la tasa de captación con la concentración de nutrientes en estos arroyos. En la primera, se plantea que las especies basales estarían adaptadas a las condiciones enriquecidas y, por lo tanto, mostrarían una demanda proporcionalmente mayor a niveles altos de nutrientes que a niveles bajos. La otra hipótesis es que la alta captación de nutrientes se mantendría debido a la alta diversidad de compartimientos basales y a la composición específica particular que existe dentro de ellos.

Control de la captación de nutrientes en arroyos pampeanos

Mediante la asimilación directa de fósforo y nitrógeno desde la columna de agua y su almacenamiento como biomasa, las macrófitas pueden aumentar la retención de nutrientes en arroyos al incrementar el almacenamiento transitorio. Así mismo, pueden aumentar el procesamiento de nutrientes de forma indirecta, al suministrar una superficie de adhesión para la colonización de comunidades epífitas o al promover la desnitrificación (Riis *et al.* 2012, O'Brien *et al.* 2014). Como resultado de la gran cantidad de nutrientes que acumulan en su biomasa y por su eficiencia de captación relativamente alta, las macrófitas pueden manifestar tasas de retención mayores que otros autótrofos (Peipoch *et al.* 2014, Levi *et al.* 2015). Pese a esto, no siempre ha sido detectada una relación clara entre la abundancia de macrófitas y la tasa de retención de nutrientes. En cuatro arroyos de Islandia,

Rasmussen *et al.* (2011) encontraron que la retención de nutrientes y la PPB aumentan con la cobertura de macrófitas, mientras que, para los seis ríos alimentados por deshielo que estudiaron, Hensley *et al.* (2014) observaron tasas de remoción más altas en los tramos con mayor vegetación. Por el contrario, O'Brien *et al.* (2014) no visualizaron un aumento en la captación de nutrientes de todo el arroyo como consecuencia del crecimiento de macrófitas, mientras que Riis *et al.* (2012) no pudieron verificar su hipótesis de que la tasa de retención en arroyos vegetados es mayor en comparación con otros arroyos. Además, la capacidad de las macrófitas para obtener nutrientes también puede estar influenciada por atributos tales como la forma de vida vegetal (Wilcock *et al.* 2004), el grupo taxonómico (macroalgas o plantas vasculares), el tipo de especie, y la estequiometría de los tejidos (Hensley *et al.* 2014).

Estudios anteriores realizados en el arroyo LF sugieren que la captación de fosfato dependería más de la biomasa y la actividad metabólica de los biofilm algales, mientras que las macrófitas influirían en la captación de nutrientes al brindar estructura al ambiente físico y generar una mayor heterogeneidad de hábitat para otros autótrofos (Feijoó *et al.* 2011). Basándonos en esta información, planteamos la segunda hipótesis de trabajo que sostiene que la captación de los biofilm algales es mayor que la captación por parte de las macrófitas. A partir de los resultados obtenidos, encontramos algunas relaciones significativas entre las métricas de retención de NH_4^+ y la autotrofia tanto del epipelon como del ecosistema, así como con la relación P/R. Sin embargo, no pudimos detectar asociaciones positivas de la producción y la biomasa algal con la captación de PRS. Por consiguiente, nuestros datos brindan una evidencia parcial en apoyo a nuestra segunda hipótesis de trabajo en relación a la captación de amonio pero no de la de fosfato.

Dada la abundancia de comunidades autotróficas presentes en los arroyos pampeanos, este estudio de campo fue diseñado con el objetivo de evaluar, principalmente, la importancia de la asimilación directa de nutrientes por parte de los compartimentos basales. Sin embargo, como ya fue mencionado en el capítulo 1, existen otros mecanismos bióticos y abióticos que pueden influir en la retención de nutrientes en los sistemas lóticos. La adsorción de fósforo al sedimento ha sido mencionada como un factor relevante por algunos autores (Davis y Minshall 1999), especialmente en arroyos de piedra caliza (Boar *et al.* 1995, Jarvie *et al.* 2006). Debido al alto contenido CaCO_3 en sus sustratos, la co-

precipitación de P podría ser importante en los arroyos pampeanos. Previamente se ha observado que el porcentaje de PRS retenido en el arroyo LF no varía a lo largo del día (Martí *et al.*, resultados no publicados), lo que sugiere que un mecanismo abiótico no vinculado a las variaciones de luz y temperatura también podría estar influyendo. En consecuencia, no puede descartarse la adsorción de P a los sedimentos como otro mecanismo que contribuye a la retención total de P en estos arroyos.

En resumen, los datos del presente estudio aportan evidencias de que la retención de PRS en los arroyos estudiados es impulsada, principalmente, por la demanda heterotrófica; aunque es posible que la adsorción a los sedimentos también sea un mecanismo que esté operando al mismo tiempo. En lo que respecta al NH_4^+ retenido, nuestros datos sugieren que está asociado principalmente a la demanda autotrófica del epipelón y a la nitrificación.

Recapitulación de las hipótesis

Primera hipótesis

4. La captación de nutrientes depende del caudal y del área relativa de la zona de retención transitoria, área que depende a su vez de la abundancia de macrófitas.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

4.1. Un bajo caudal y una alta biomasa de macrófitas aumentarán la captación de fosfato y amonio.

No se encontró una relación significativa entre A_s/A y las métricas de retención o la biomasa de macrófitas. Por otro lado, las métricas de retención tampoco se asociaron con la biomasa de macrófitas. En consecuencia, los resultados no apoyan la primera hipótesis de trabajo.

Segunda hipótesis

Hipótesis general

La producción autotrófica es uno de los principales factores reguladores de la retención de nutrientes en arroyos pampeanos.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

- Cuanto mayor sea la producción autotrófica, la retención de nutrientes, medida como captación de fosfato y de amonio, será mayor.

Hipótesis particular

La captación de los biofilm algales es mayor que la captación por parte de las macrófitas.

A partir de esta hipótesis se desprende la siguiente predicción:

- El aumento de la biomasa y de la producción algal elevará la captación de fosfato y amonio.

Los resultados de este estudio muestran algunas relaciones significativas entre las métricas de retención de NH_4^+ y la autotrofia del epipelon, la autotrofia del ecosistema, y la relación P/R. Sin embargo, no pudimos detectar asociaciones positivas de la producción y la biomasa algal con la captación de PRS. Por consiguiente, nuestros datos brindan una evidencia parcial en apoyo a la segunda hipótesis de trabajo en favor de la captación de amonio pero no de la de fosfato.

Conclusiones

Analizar las transformaciones biogeoquímicas en arroyos a través de diferentes climas, paisajes y biomas es fundamental para ampliar nuestra visión acerca de cómo funciona la retención de nutrientes y cuáles son sus determinantes geomorfológicos y biológicos. Los resultados de nuestro estudio desafían algunos de los supuestos habituales de investigaciones previas sobre el procesamiento de nutrientes en arroyos. En primer lugar, porque demuestran que la captación de nutrientes y la eficiencia de retención en los arroyos pampeanos, a pesar de sus altos niveles basales de nutrientes, pueden ser muy elevadas y similares a las observadas en arroyos con bajos niveles de nutrientes. En segundo lugar, porque el papel de las macrófitas en la retención de nutrientes por captación directa parece ser un papel menor en estos arroyos, a pesar de la gran abundancia que los caracteriza. Y, por último, porque es probable que el procesamiento de nutrientes dependa

tanto de la demanda de los autótrofos como de los heterótrofos. En general, se asume que la retención de nutrientes en arroyos no forestados está gobernada, principalmente, por los fotoautótrofos (Fellows *et al.* 2006). A pesar de ello, no hemos podido detectar un claro dominio de la biomasa autotrófica y de la actividad metabólica sobre la retención de nutrientes, especialmente en el caso del fosfato.

Capítulo 5- Captación abiótica de fosfato y amonio en el sedimento, captación autotrófica y heterotrófica del epipelon, y su influencia en la retención de nutrientes: una aproximación experimental

Introducción

Los trabajos sobre retención de nutrientes en arroyos se centran, en su mayoría, en la influencia de factores físicos (capítulo 1). Sin embargo, como ya fue mencionado anteriormente, en la dinámica de nutrientes intervienen no sólo procesos abióticos como la adsorción, la desorción, la precipitación y la dilución, sino también procesos bióticos como la captación autotrófica y heterotrófica, la lixiviación y la mineralización. De todos estos factores, la adsorción y la captación heterotrófica tendrían mayor peso (Stream Solute Workshop, 1990). Estos aspectos han sido estudiados en arroyos heterotróficos, pero existe poca información en relación a los arroyos autotróficos, como es el caso de los arroyos pampeanos.

El estudio de la migración y la transformación de solutos entre el agua y los sedimentos es uno de los temas más importantes dentro del ciclo de nutrientes en los ecosistemas acuáticos. Los sedimentos juegan un importante rol en el ciclo de nutrientes, ya que pueden actuar tanto de fuente como de sumidero debido al continuo transporte de especies químicas entre la interfase sedimento-agua (Jarvie *et al.* 2005, Jorcin y Nogueira 2005).

Existen muchos factores que pueden influenciar la liberación de solutos entre la interfase agua-sedimentos, incluyendo el potencial redox, el pH, la temperatura, el oxígeno disuelto, la salinidad y la resuspensión de los sedimentos (Koski-Vähälä y Hartikainen 2001, Perkins y Underwood 2001, Kaiserli *et al.* 2002, Christophoridis y Fytianos 2006, Jin *et al.* 2006a, 2006b, Wang *et al.* 2013). Sin embargo, la mayoría de los trabajos previos realizados en esta interfase se han focalizado en las transformaciones e intercambios que

ocurren allí, ignorando la presencia de los biofilm presentes en ella, que pueden afectar significativamente la migración de nutrientes entre el agua y los sedimentos (Woodruff *et al.* 1999, Battin *et al.* 2003). Por consiguiente, analizar no sólo la influencia de la captación abiótica en el sedimento sino también la importancia relativa de la captación autotrófica y heterotrófica del epipelon sobre la retención de nutrientes puede ayudar a mejorar el entendimiento del ciclo de nutrientes en los ecosistemas acuáticos que contienen biofilm o agregados microbiales y algales similares (Lu *et al.* 2016).

Existen numerosos estudios acerca de las interacciones entre el PRS y los sedimentos lacustres, marinos o estuáricos, asociándose la capacidad de adsorción de los sedimentos a su composición elemental. En arroyos oligotróficos se ha demostrado que la adsorción en sedimentos es un importante mecanismo de captación tanto de fosfato como de amonio (Meyer 1979, Richey *et al.* 1985, Simon *et al.* 2005), pero en ambientes eutróficos este proceso sería despreciable dado que los sitios de reacción en el sedimento se encontrarían ocupados cuando existe una carga alta y constante de nutrientes (Gücker y Pusch 2006). Sin embargo, algunos autores han identificado a la adsorción de fósforo al sedimento como un factor relevante (Davis y Minshall 1999), especialmente en arroyos de piedra caliza (Boar *et al.* 1995, Jarvie *et al.* 2006).

Debido al alto contenido de CaCO_3 que poseen en su sustrato, la co-precipitación de fósforo podría ser un factor importante en los arroyos pampeanos. Como fue mencionado anteriormente, en el arroyo Las Flores ha sido observado que el porcentaje de fosfato retenido no varía a lo largo del día (Martí *et al.*, datos no publicados). Esto sugiere que un mecanismo abiótico no ligado a la variación diaria de luz y temperatura, como es el caso de la adsorción de fósforo al sedimento, podría estar influyendo en la retención de fosfato. Por lo tanto, adsorción de fósforo, en estos arroyos, debe tenerse en cuenta como un posible mecanismo que contribuye a la retención total de este nutriente.

Estudios previos han demostrado que los biofilm algales juegan un rol preponderante en los ecosistemas acuáticos, influyendo en la producción primaria, las cadenas tróficas y la migración de nutrientes y contaminantes en la interfase agua-sedimento (Paerl y Pinckney 1996, Woodruff *et al.* 1999, Battin *et al.* 2003, Jöbgen *et al.* 2004, Azim 2009, Boelee *et al.* 2011, Writer *et al.* 2011, Pratiwi *et al.* 2012, Saikia *et al.* 2013). En particular, en el ciclo del P, los biofilm son críticos en la interfase sedimento-

agua debido a su alta afinidad por el P (Scinto y Reddy 2003, McCormick *et al.* 2006, Drake *et al.* 2012, Lu *et al.* 2016). Generalmente, esta alta afinidad se debe a la asimilación de P (Guzzon *et al.* 2008), la adsorción (Scinto y Reddy 2003, Lu *et al.* 2014a, 2014b), la co-precipitación (Dodds 2003, Hill y Fanta 2008) y la captura (Adey *et al.* 1993) del P del agua. En consecuencia, los biofilm algales pueden actuar como potenciales sumideros de P en el agua (McCormick *et al.* 2006).

Algunos estudios han encontrado que la migración de P entre el agua y el sedimento estuvo controlada, en mayor medida, por el perifiton y no por la difusión (Woodruff *et al.* 1999, Gainswin *et al.* 2006, Pietro *et al.* 2006). Así mismo, recientemente se ha sugerido que la presencia de perifiton en la interfase agua-sedimento puede, no sólo disminuir el contenido de P en el agua circundante, sino también disminuir la liberación de P desde el sedimento (Wu *et al.* 2010, Zhang *et al.* 2013, Lu *et al.* 2016).

Los ensayos de sedimento a escala de laboratorio han sido utilizados para predecir los procesos que ocurren a nivel de un ecosistema fluvial. Dichos ensayos se han utilizado para analizar la nitrificación, la denitrificación y la absorción de amonio, fósforo y nitrato en arroyos (Kemp y Dodds, 2002a, b). También se han empleado comúnmente, en sistemas marinos y de humedales (por ejemplo, Stanley y Ward, 1997). La ventaja de estos ensayos es que suelen ser relativamente fáciles de realizar y de replicar, pero tienen la desventaja de que los resultados son difíciles de extrapolar a escala de ecosistema (O'Brien y Dodds 2008). Los experimentos de simulación en canales artificiales con recirculación ofrecen una buena alternativa a los estudios de campo en arroyos y permiten el control de las condiciones hidrológicas. Esta herramienta es particularmente apropiada para el estudio de los procesos físicos que dirigen el transporte de P (Hart *et al.* 1992, House y Denison 1998), especialmente, la adsorción por parte de los sedimentos (Bowmer *et al.* 1994, Nguyen *et al.* 2002, Barlow *et al.* 2004). A pesar de tener un tamaño reducido y ser menos complejos que los ecosistemas reales, los canales artificiales permiten el estudio de los procesos de retención de nutrientes de forma controlada, simple y replicable (Rodríguez Castro 2015).

Partiendo de la hipótesis de que la captación abiótica en el sedimento es un factor que regula la retención de nutrientes en los arroyos pampeanos, los objetivos planteados en esta parte del trabajo de tesis fueron determinar la influencia de los procesos de captación

abiótica de fosfato y amonio en el sedimento y analizar la importancia relativa de la captación autotrófica y heterotrófica del epipelon sobre la retención de ambos nutrientes.

Metodología

Ensayo preliminar

Con el objetivo de poner a punto el diseño experimental se realizó un ensayo preliminar en el que se comparó la captación abiótica de fosfato en el sedimento del arroyo De la Cruz y en el sedimento del arroyo Las Flores.

A partir de los resultados obtenidos en estos ensayos y en los experimentos de campo; y ya que no se observaron diferencias entre los procesos de captación abiótica en los sedimentos de ambos arroyos, el experimento se rediseñó con el objetivo de analizar, no sólo la captación abiótica de nutrientes al sedimento (retención química), sino también discriminar los efectos de la captación autotrófica y heterotrófica por parte de la comunidad bentónica. De esta manera, se optó por explorar diferentes factores que influyen sobre la retención de nutrientes pero evaluarlos solamente en el sedimento de uno de los arroyos bajo estudio, el arroyo De la Cruz (DLC).

Captación biótica y abiótica de fosfato en el sedimento

El diseño de estas experiencias está basado en la metodología propuesta por Schulz y Herzog (2004) y Butturini y Sabater (1999) y fue adaptado para la utilización de canales artificiales.

Los arroyos artificiales utilizados fueron diseñados siguiendo las recomendaciones de la bibliografía específica (Lamberti & Steinman 1993) y las características particulares de los arroyos pampeanos, es decir, una baja velocidad de corriente y un alto tiempo de residencia del agua, con predominio de flujo laminar (Feijoó *et al.* 1999). De acuerdo con la bibliografía, los arroyos deben contar con un tamaño suficiente para el desarrollo y supervivencia de la biota que se estudia y permitir, a su vez, la expresión de los factores que se pretenden controlar. De esta forma, para llevar a cabo el experimento se contó con 12 canales de acrílico de 4 mm de espesor, 0,9 m de longitud y un ancho y altura de 0,1 m.

Los arroyos fueron instalados en una habitación con aire acondicionado de forma de mantener constante la temperatura exterior. A su vez, el sistema fue iluminado mediante tubos fluorescentes Philips® (40 Watt). Estos tubos emiten luz día y proporcionan una irradiancia aproximada de $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{seg}$, de radiación fotosintéticamente activa, representando el espectro de la luz visible. Si bien esta irradiancia es similar a la de un día nublado, fue la mayor que se pudo conseguir en condiciones de laboratorio sin generar un exceso térmico. De todas maneras, para evitar este exceso de temperatura, además del aire acondicionado, la instalación de los canales disponía de un ventilador y un extractor para forzar la circulación de aire. Para evitar interferencias de la iluminación ambiental el sistema se aisló del resto del área de trabajo mediante una tela de nylon negra (Figuras 5.1 y 5.2).

Los arroyos fueron alimentados mediante recirculación de agua a través de mangueras de goma ubicadas al inicio y al final de cada canal y conectadas en su extremo final a bombas Atman® AT-301 individuales e independientes. Las bombas fueron reguladas para obtener un flujo constante de 0,01 L/s. Este flujo fue seleccionado considerando el tiempo de residencia estimado para los arroyos de la zona (Vilches 2012). Con el objetivo de evitar un flujo turbulento, en la entrada de agua a cada canal se colocaron barras de acrílico, logrando una rápida dispersión de las sustancias adicionadas aún con un flujo constante bajo (Rodríguez Castro 2015).

Diseño experimental

Las muestras de sedimento fueron colectadas del arroyo De la Cruz en Septiembre de 2014. Las mismas fueron extraídas con un corer de 4 cm de diámetro (área = $0,0013 \text{ m}^2$) y seleccionadas al azar del lecho del arroyo a lo largo del tramo de estudio utilizado para los experimentos de campo (50 m). Inmediatamente después de la extracción, los 2 cm superficiales de las muestras fueron separados. Asimismo, se tomaron muestras de agua por triplicado para determinar la concentración de fósforo reactivo soluble (PRS) mediante el método del ácido ascórbico (capítulo 3). Las muestras se trasladaron al laboratorio en oscuridad. Para analizar la captación abiótica de nutrientes en el sedimento, el mismo fue autoclavado (sedimento sin comunidad, tratamiento A), descartando así la posible captación por parte de la comunidad epipélica. Para evaluar la captación heterotrófica, el sedimento

fue mantenido en oscuridad (tratamiento B) de manera de no permitir la captación por parte de la fracción autotrófica. Finalmente, para evaluar la captación autotrófica, el sedimento fue mantenido tal cual se extrajo del arroyo (tratamiento C). Así mismo se contó con un control del método (sólo con agua en circulación). Una vez en el laboratorio, todas las muestras fueron asignadas a los tratamientos al azar y colocadas en los canales artificiales de circulación continua (7 recipientes con dos muestras cada uno por canal, lo que hizo un total de 300 g iniciales de peso seco de sedimento). En los canales se hizo circular agua reconstituida a 23 ± 2 °C, cuyos parámetros fisicoquímicos fueron similares a los de los arroyos pampeanos (conductividad elevada y mineralización media) (Rodríguez Castro 2015).

Cada tratamiento y el control del método fueron replicados tres veces, manteniendo así un total de 12 canales artificiales en funcionamiento (Figuras 5.1, 5.2). Las muestras fueron sometidas a un período de estabilización durante 48 hs con todos los canales expuestos a un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Al cabo de ese tiempo, se separó una muestra de sedimento de cada canal para determinar los niveles iniciales de clorofila-*a* y el contenido de fósforo total mediante las metodologías descriptas en el capítulo 3. Al comenzar el experimento, los canales asignados al tratamiento B fueron cubiertos en su totalidad por un plástico negro. A continuación, se adicionó a cada canal una solución concentrada de fosfato de modo de lograr que el agua que circulaba por los canales tuviera una concentración de 1 mg/L de P- PO_4^{3-} , que es similar a la máxima registrada en arroyos no impactados de la zona (Feijoó *et al.* 1996, Leggieri *et al.* 2013). Se tomaron muestras de agua sucesivas de 10 ml de cada canal cada 2-3 hs durante las horas luz y se midió el cambio de la concentración de fosfato (como fósforo reactivo soluble, PRS) en el agua a lo largo de 5 días, que fue el período estimado a partir de pruebas previas para detectar cambios en las concentraciones. Las muestras de agua fueron filtradas por filtros Whatman GF/F y en ellas se midió la concentración de PRS. Finalmente, en los sedimentos se determinaron los niveles finales de clorofila-*a*, el contenido de fósforo total y la granulometría, y en el agua, los sólidos en suspensión, por los métodos descriptos en el capítulo 3. Durante todo el experimento se monitorearon el pH, la temperatura, la conductividad y el oxígeno disuelto en todos los canales.

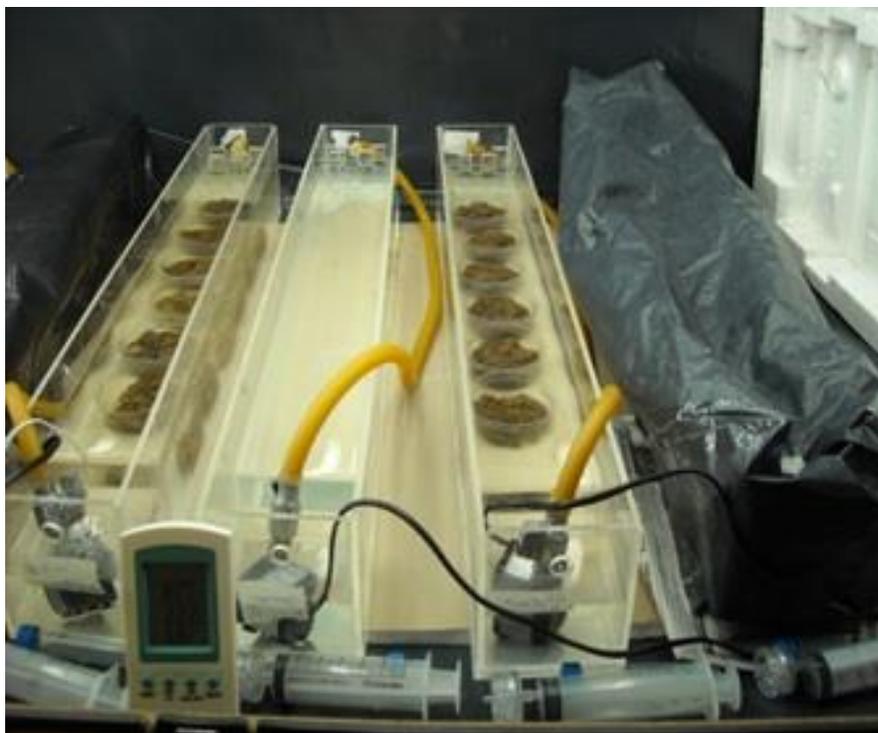


Figura 5.1. De izquierda a derecha se observan: el tratamiento C (sedimento junto a la comunidad epipélica completa, a la luz), el control del método (sólo con agua en circulación), el tratamiento A (sedimento sin comunidad, por autoclavado) y el B (sedimento sólo con la comunidad heterotrófica del epipelon, en oscuridad).



Figura 5.2. Montaje experimental con los 12 canales artificiales en funcionamiento.

Captación biótica y abiótica de amonio en el sedimento

Diseño experimental

Para estimar la captación abiótica de amonio en el sedimento se realizó una experiencia con diseño similar a la anterior y con las siguientes modificaciones:

- a) En las muestras de agua traídas del arroyo De la Cruz (en Diciembre de 2014) se estimó la concentración de amonio, nitratos y nitritos mediante los métodos descritos en el capítulo 3.
- b) Al cabo de las 48 horas de estabilización, se separó una muestra de cada canal para determinar los niveles iniciales de clorofila-*a* y de nitrógeno total en los sedimentos por la técnica de semi-micro-kjeldahl (ver capítulo 3). A continuación, se adicionó a cada canal artificial una solución concentrada de amonio de modo de obtener en el agua en circulación una concentración de 0,5 mg/L de N-NH₄⁺ (concentración similar a la máxima observada en los arroyos de la región, según Feijoó *et al.* 1996).
- c) Se tomaron muestras de agua de cada canal cada 2-3 hs durante las horas luz y se midió la caída de la concentración de amonio y las concentraciones de nitritos y nitratos a lo largo de 2 días (período estimado a partir de pruebas previas).
- c) Al finalizar el experimento, se midió, en los sedimentos, la concentración final de clorofila-*a* y el contenido de nitrógeno total (ver capítulo 3).

Análisis Estadístico

La normalidad de todas las variables respuesta fue verificada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. El análisis proveniente de los resultados de las variaciones de fosfato y amonio en el tiempo y entre los tratamientos así como las variaciones en el porcentaje de PRS presente en el agua fue realizado utilizando los Modelos Lineales Generalizados Mixtos [del inglés: Generalized Linear Mixed Models (GLMMs)], con el programa estadístico R y el paquete de datos de GLMMs (Zuur *et al.* 2009), en un entorno de InfoStat. Para realizar dichos análisis se ajustaron los modelos con distintas estructuras de covarianza combinando estructuras de correlación residual y heterocedasticidad residual. Mediante el criterio de verosimilitud AIC (del inglés: Akaike Information Criteria) se eligió el mejor modelo (Balzarini *et al.* 2008). Así mismo, para evaluar las posibles diferencias

entre las concentraciones iniciales y finales de nitritos, nitratos, fósforo total y nitrógeno total entre los tratamientos también se utilizaron GLMMs. Para realizar dichos análisis se ajustaron los modelos con distinta homocedasticidad y mediante el criterio de verosimilitud AIC se eligió el mejor modelo (Balzarini *et al.* 2008). Para todos los análisis, en el caso de detectarse una interacción significativa entre tiempos y tratamientos se realizaron análisis de efectos simples. En el caso contrario, se estudiaron los efectos principales independientemente. En caso de detectarse diferencias significativas, se realizó un análisis de LSD Fisher *a posteriori* de comparación de medias. El nivel de significancia fue fijado en 0,05.

Resultados

Captación biótica y abiótica de fosfato en el sedimento

En el momento de muestreo, el pH del arroyo DLC fue de 7,51 y la concentración de PRS fue de 0,057 mg/L. Las condiciones de pH, temperatura, oxígeno disuelto (OD) y conductividad se mantuvieron relativamente constantes a lo largo del experimento (Tabla 5.1).

Tabla 5.1. Condiciones de pH, oxígeno disuelto (OD), conductividad y temperatura a lo largo del experimento. Los valores se expresan como las medias \pm el desvío estándar.

pH	OD (mg/L)	Conductividad (μ S/cm)	T ($^{\circ}$ C)
8,66 \pm 0,16	7,95 \pm 0,35	1070 \pm 40	22,8 \pm 0,5

Los sedimentos contenían alrededor de un 25% de partículas del tamaño correspondiente a las arcillas (Tabla 5.2), que tienden a ser la fracción químicamente más reactiva al fósforo disuelto (fracción < 2 mm de tamaño) (Rogers *et al.* 2013). Al final del experimento, los sólidos en suspensión en los tres tratamientos no difirieron de los presentes en el control del método (Tabla 5.3)

Tabla 5.2. Granulometría del sedimento de los tres tratamientos \pm el desvío estándar (DS) y clase textural. Fa/F (Franco arcilloso a Franco), F (Franco).

	% Arena	% Limo	% Arcilla	Clase textural
Luz	25,6	46	28,4	Fa /F
Oscuridad	23,4	52,3	24,3	F
Sin comunidad	25,7	51,9	22,4	Fa/F
DS	1,3	3,5	3,1	

Tabla 5.3. Sólidos en suspensión en el agua de los tres tratamientos y del control del método \pm el desvío estándar.

Sólidos en suspensión (mg/L)			
Oscuridad	Sin comunidad	Luz	Control
6,2 \pm 1,5	6,5 \pm 0,5	6,8 \pm 0,6	6,3 \pm 0,6

La concentración de clorofila-*a* fue muy variable entre los distintos tratamientos (Tabla 5.4). En el sedimento sin comunidad (tratamiento A) fue despreciable, mientras que en los otros dos tratamientos aumentó al final del experimento, siendo mayor en el sedimento expuesto a la luz.

Tabla 5.4. Concentración de clorofila-*a* en el sedimento de los tres tratamientos \pm el desvío estándar.

Biomasa epipelon (mg cl-<i>a</i>/m²)			
	Oscuridad	Luz	Sin comunidad
inicial	69 \pm 34	519 \pm 251	3 \pm 1
final	81 \pm 47	711 \pm 381	2 \pm 2

El análisis estadístico de las variaciones de PRS para cada tratamiento en el tiempo mostró una interacción significativa ($p < 0,0001$) entre los factores tratamiento y tiempo (Tabla 5.5). La comunidad heterotrófica (tratamiento B) presentó variaciones de PRS en el

agua no significativas a lo largo de todo el experimento. Por el contrario, el sedimento con la comunidad completa (tratamiento C) y el sedimento sin comunidad (tratamiento A) sí mostraron diferencias significativas en la caída de PRS a lo largo del tiempo (Figura 5.3). A partir de las 47 horas de empezado el experimento y hasta las 53 horas, tanto en el tratamiento expuesto a la luz como en el sedimento sin comunidad se observó una disminución de la concentración; pero esta disminución no evidenció diferencias significativas entre ambos tratamientos. Por el contrario, el sedimento expuesto a la oscuridad mostró variaciones que fueron, incluso, menores que las observadas en el control del método.

A partir de las 71 horas, la concentración de PRS en el agua comenzó a aumentar tanto en el tratamiento expuesto a la luz como en el sedimento sin comunidad. Probablemente, esto se haya generado a causa de la liberación de una fracción del fósforo que había sido captado en el sedimento hasta las 53 horas de transcurrido el experimento (Figura 5.3). Al finalizar el ensayo, la concentración de PRS en el agua del tratamiento sin comunidad fue significativamente mayor que en el tratamiento expuesto a la luz, lo que evidencia que ese aumento de PRS se debe a un proceso de liberación del PRS captado abióticamente en el sedimento y que la disminución final observada en el tratamiento con la comunidad completa fue a causa de procesos de captación biótica.

Tabla 5.5. Resultado del GLMM realizado para comparar las variaciones de fósforo reactivo soluble (PRS) en cada tratamiento a lo largo del tiempo. Se utilizó al tratamiento y al tiempo como efectos fijos y a la unidad experimental como efecto aleatorio.

Variación de PRS (mg/L) en el tiempo			
Fuente de variación	df	<i>F</i>	p
Tratamiento	3	78,51	<0,0001
Tiempo	25	38,08	<0,0001
Interacción	75	3,07	<0,0001

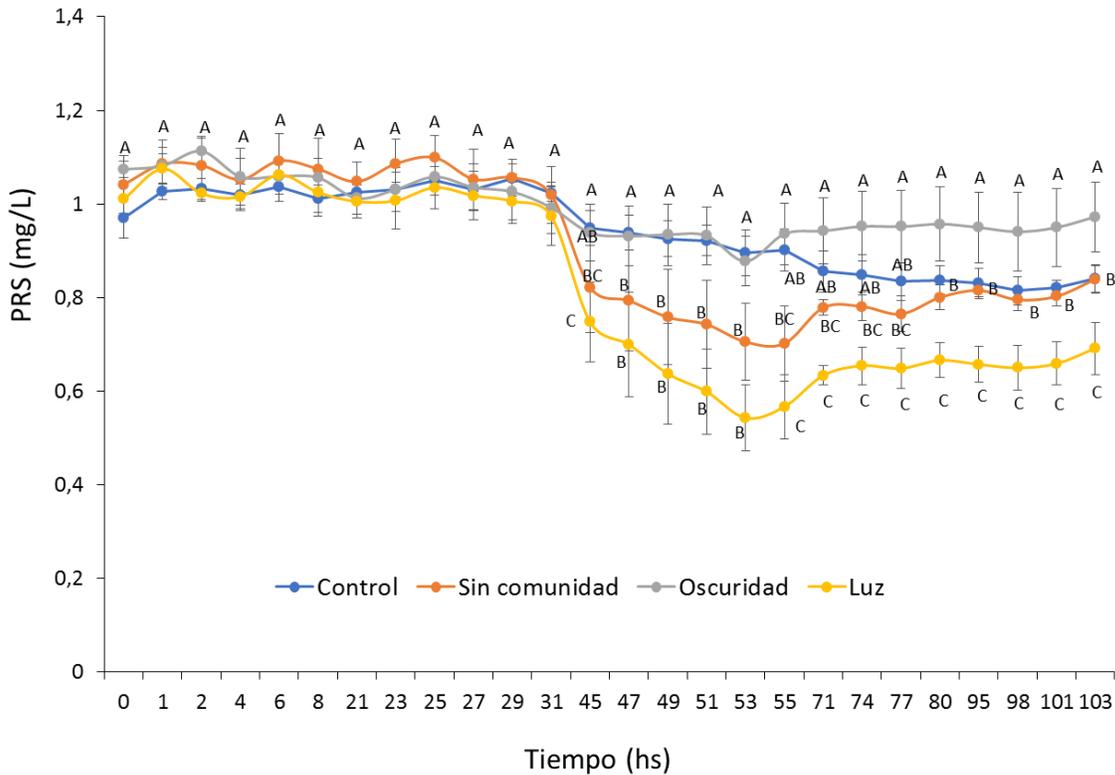


Figura 5.3. Variaciones de la concentración de PRS (en mg/L) en el agua en circulación a lo largo del tiempo en cada uno de los tratamientos y en el control del método. Sedimento junto a la comunidad epipélica completa (luz), sedimento autoclavado (sin comunidad) y sedimento sólo con la comunidad heterotrófica del epipelon (oscuridad). Las barras de error representan el error estándar. Las distintas letras representan diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada tiempo.

Para una mejor visualización del proceso de captación abiótica y la posterior liberación de fósforo, se analizaron las diferencias entre los porcentajes de PRS presentes en el agua en relación a la concentración inicial entre los tratamientos a tiempo inicial, a las 53 horas y a tiempo final (103 horas). Los resultados del análisis estadístico indican que a las 53 horas, el porcentaje de PRS en el agua disminuyó significativamente con respecto a la concentración inicial (Tabla 5.6) tanto en el sedimento expuesto a la luz como en el sedimento sin comunidad (Figura 5.4). La remoción del PRS presente en el agua fue del $47 \pm 9 \%$ en el primer caso y del $33 \pm 7 \%$ en el segundo. Al final del experimento, los resultados indican que en el tratamiento sin comunidad el porcentaje de PRS en el agua no difiere significativamente del inicial, lo que ratifica que, si bien a las 53 horas existieron procesos de captación abiótica en el sedimento, posteriormente, ocurrió un proceso de liberación del fósforo al agua. Sin embargo, del 33% de PRS removido a las 53 horas, sólo

un $13,7 \pm 12,4$ % fue devuelto al agua, difiriendo ampliamente entre los distintos tratamientos. En el tratamiento con toda la comunidad, en cambio, si bien se observa un aumento del % de PRS en el agua con respecto a las 53 horas, el porcentaje final fue significativamente diferente del inicial. Del 47% de PRS removido a las 53 horas, sólo un 15 % retornó al agua. Esto evidencia que no sólo ocurrió, al igual que en el tratamiento sin comunidad, un proceso de liberación de fósforo, sino que también hubo captación por parte de las comunidades autotróficas y heterotróficas presentes.

Tabla 5.6. Resultado del GLMM realizado para comparar las variaciones en el porcentaje de fósforo reactivo soluble (PRS) presente en el agua para cada tratamiento a tiempo inicial, a las 53 horas y a tiempo final. Se utilizó al tratamiento y al tiempo como efectos fijos y a la unidad experimental como efecto aleatorio.

% de PRS en el agua con respecto al inicial			
Fuente de variación	df	<i>F</i>	p
Tratamiento	3	17,16	<0,0001
Tiempo	2	29,26	<0,0001
Interacción	6	5,49	0,0013

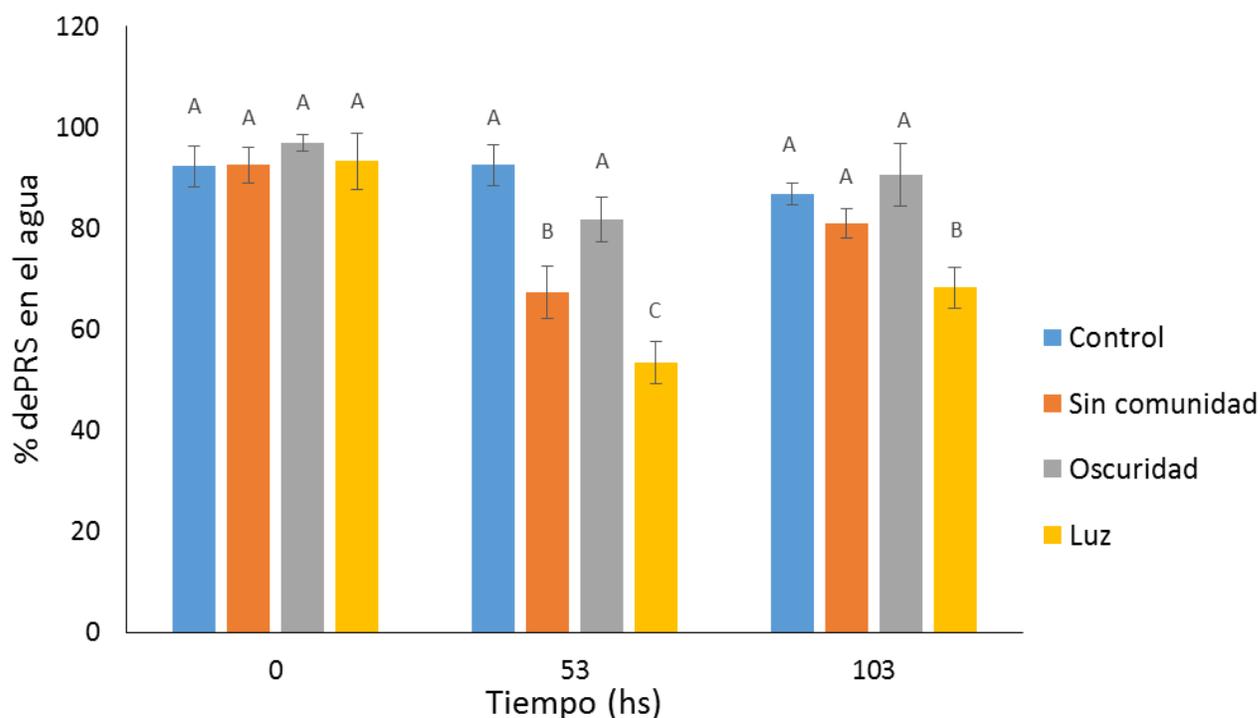


Figura 5.4. Variaciones en el porcentaje de PRS en el agua en cada tratamiento y en el control del método. Las barras de error representan el error estándar. Las distintas letras representan diferencias significativas entre tiempos para cada tratamiento.

El análisis de la concentración de fósforo total (PT) inicial y final en el sedimento de cada tratamiento corrobora los resultados encontrados en el agua. Si bien se encontraron diferencias significativas ($p = 0,02$) entre los tratamientos (Tabla 5.7), esto se debió a que, inicialmente, el sedimento sin comunidad poseía una mayor concentración de PT con respecto al resto (Figura 5.5). Esto pudo haberse debido, a la probable liberación de fósforo por parte de los organismos muertos generada a causa del tratamiento de autoclavado (Uehlinguer 1986). Por el contrario, las concentraciones a tiempo inicial y final, no difirieron significativamente ($p = 0,76$) entre los distintos tratamientos, lo que corrobora que tanto en el tratamiento a la luz como en el sin comunidad, la mayor parte del fósforo captado abióticamente en el sedimento retornó al agua.

Tabla 5.7. Resultado del GLMM realizado para comparar las variaciones en el fósforo total (PT) presente en el sedimento de cada tratamiento a tiempo inicial y a tiempo final. Se utilizó al tratamiento y al tiempo como efectos fijos.

PT en el sedimento (mg/g)			
Fuente de variación	df	F	p
Tratamiento	2	5,8	0,02
Tiempo	1	0,1	0,76
Interacción	2	0,39	0,70

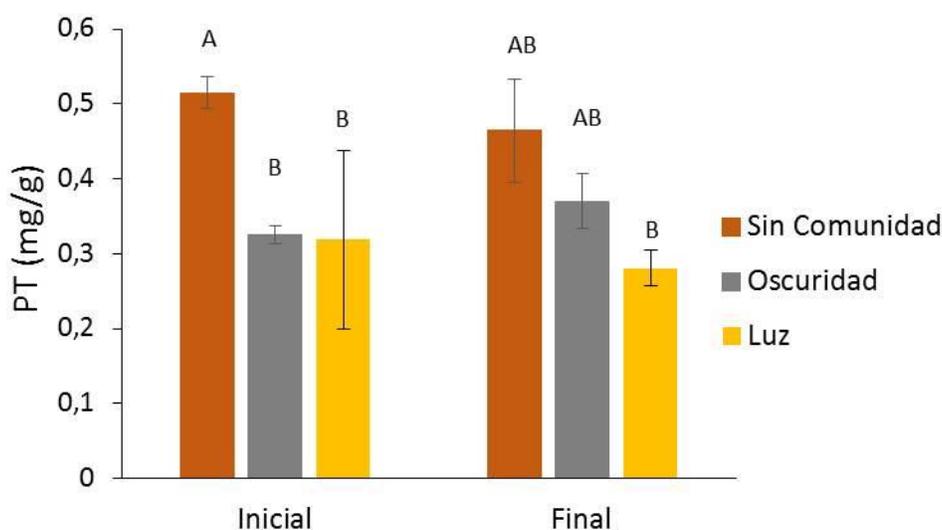


Figura 5.5. Concentración de fósforo total (PT) en mg de fósforo por g de sedimento en el tratamiento autoclavado (sin comunidad), el expuesto a la oscuridad y el expuesto a la luz (luz), al inicio (0 horas) y al final (103 horas) del experimento. Las barras de error representan el error estándar. Las distintas letras representan diferencias significativas entre tratamientos para cada tiempo.

Captación biótica y abiótica de amonio en el sedimento

En el momento de muestreo, el pH del arroyo DLC fue de 7,62, la concentración de NH_4^+ fue de 0,016 mg/L, la de NO_3^- de 2,15 mg/L y la de NO_2^- de 0,012 mg/L. Las condiciones de pH, temperatura, oxígeno disuelto (OD) y conductividad, a lo largo del experimento, se mantuvieron relativamente constantes (Tabla 5.8).

Tabla 5.8. Condiciones de pH, oxígeno disuelto (OD), conductividad y temperatura a lo largo del experimento. Los valores se expresan como las medias \pm el desvío estándar.

pH	OD (mg/L)	Conductividad (μS/cm)	T ($^{\circ}$C)
8,53 \pm 0,2	6,51 \pm 0,4	1055 \pm 36	22,8 \pm 0,9

La concentración de clorofila-*a* en el sedimento sin comunidad fue despreciable tanto al inicio como al final del experimento (Tabla 5.9). En el tratamiento expuesto a la luz, la concentración de clorofila-*a* fue siempre mayor que en el resto de los tratamientos y, a su vez, aumentó al final del experimento. En el sedimento expuesto a la oscuridad, en cambio, la concentración disminuyó.

Tabla 5.9. Concentración de clorofila-*a* en el sedimento de los tres tratamientos \pm el desvío estándar.

	Biomasa epipelon (mg cl-<i>a</i>/m²)		
	Oscuridad	Luz	Sin comunidad
inicial	94 \pm 22	71 \pm 9	0 \pm 2
final	73 \pm 29	133 \pm 73	0 \pm 2

A diferencia del experimento de fosfato, el análisis estadístico de las variaciones de NH_4^+ para cada tratamiento en el tiempo no mostró una interacción significativa ($p = 0,14$) entre los factores tratamiento y tiempo, pero mostró diferencias en el tiempo ($p < 0,0001$) y entre los tratamientos ($p < 0,0001$, Tabla 5.10). A partir de las 15 horas de iniciado el experimento, la disminución de amonio en el agua en circulación se hizo evidente, diferenciándose del control tanto el sedimento con la comunidad heterotrófica como el sedimento con la comunidad completa (Figura 5.6). En el caso del sedimento sin comunidad, también hubo una disminución del amonio en el agua, pero esta baja no fue estadísticamente significativa. Para el final del experimento, las diferencias mantuvieron la misma tendencia. En resumen, la disminución de la concentración de NH_4^+ en el agua del tratamiento expuesto a la luz y en el sedimento expuesto a la oscuridad fue significativamente mayor que la variación de amonio en el control, pero fue similar entre

ambos tratamientos. En el sedimento sin comunidad, en cambio, si bien se observó una disminución de la concentración de amonio, la misma no fue estadísticamente significativa. Esto pone de manifiesto que la influencia de la captación abiótica de amonio en el sedimento resultó ser un proceso de menor importancia en este experimento de retención en comparación con el experimento de fosfato.

Tabla 5.10. Resultado del GLMM realizado para comparar las variaciones de amonio (NH_4^+) en cada tratamiento a lo largo del tiempo. Se utilizó al tratamiento y al tiempo como efectos fijos y a la unidad experimental como efecto aleatorio.

Variación de NH_4^+ (mg/L) en el tiempo			
Fuente de variación	df	F	p
Tratamiento	3	15,21	<0,0001
Tiempo	9	27,5	<0,0001
Interacción	27	1,38	0,14

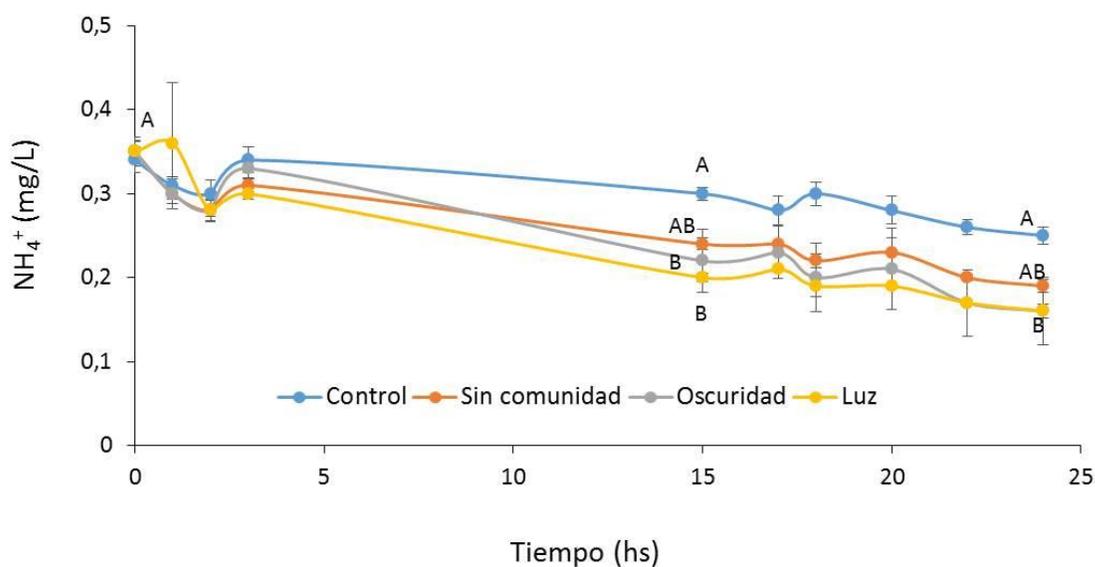


Figura 5.6. Variaciones de la concentración de amonio (NH_4^+) en el agua en circulación a lo largo del tiempo en cada uno de los tratamientos y en el control del método. Las barras de error representan el error estándar. Las distintas letras representan diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada tiempo.

Al analizar las variaciones de la concentración de nitrato (NO_3^-) en el agua (Figura 5.7) no se observaron diferencias significativas entre la concentración inicial y final para ninguno de los tratamientos (Tabla 5.11). Por lo tanto, la disminución de la concentración de amonio observada en el agua no puede ser atribuida a la nitrificación, en términos de transformación de amonio a nitrato.

Tabla 5.11. Resultados de los GLMMs realizados para comparar las concentraciones de nitrato (NO_3^-) en cada tratamiento entre el tiempo inicial y final.

Concentración de NO_3^- (mg/L)			
Tratamiento	df	F	p
Control	1	7,05	0,057
Sin Comunidad	1	0,20	0,676
Oscuridad	1	0,46	0,534
Luz	1	0,48	0,528

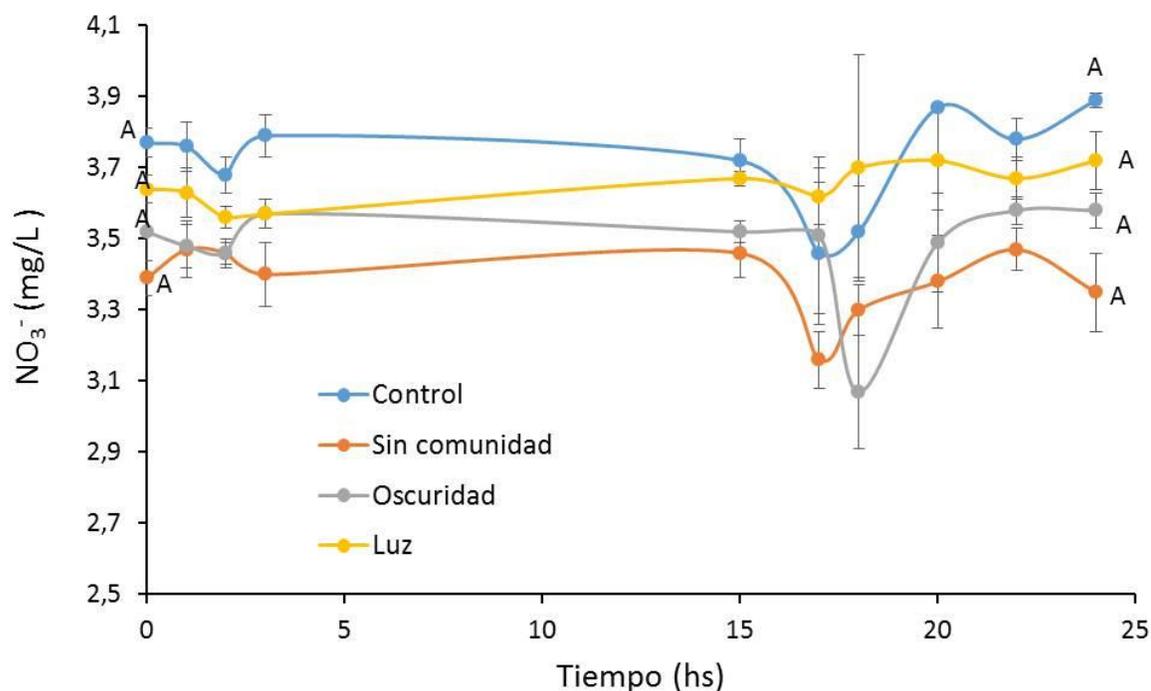


Figura 5.7. Variaciones de la concentración de nitrato (NO_3^-) en el agua en circulación a lo largo del tiempo en cada uno de los tratamientos y en el control del método. Las barras de error representan el error estándar. Las distintas letras representan diferencias significativas entre el tiempo inicial y final dentro de cada tratamiento.

Las variaciones de la concentración de nitrito (NO_2^-) en el agua (Figura 5.9) no mostraron diferencias significativas entre la concentración inicial y final en ninguno de los tratamientos (Tabla 5.12). Por consiguiente, la disminución de la concentración de amonio observada en el agua tampoco puede ser atribuida a la nitrificación en términos de transformación de amonio a nitrito.

Tabla 5.12. Resultado de los GLMM realizados para comparar las concentraciones de nitrito (NO_2^-) iniciales y finales de cada tratamiento.

Concentración de NO_2^- (mg/L)			
Tratamiento	df	F	p
Control	1	0,04	0,853
Sin Comunidad	1	0,36	0,581
Oscuridad	1	1,76	0,255
Luz	1	0,45	0,540

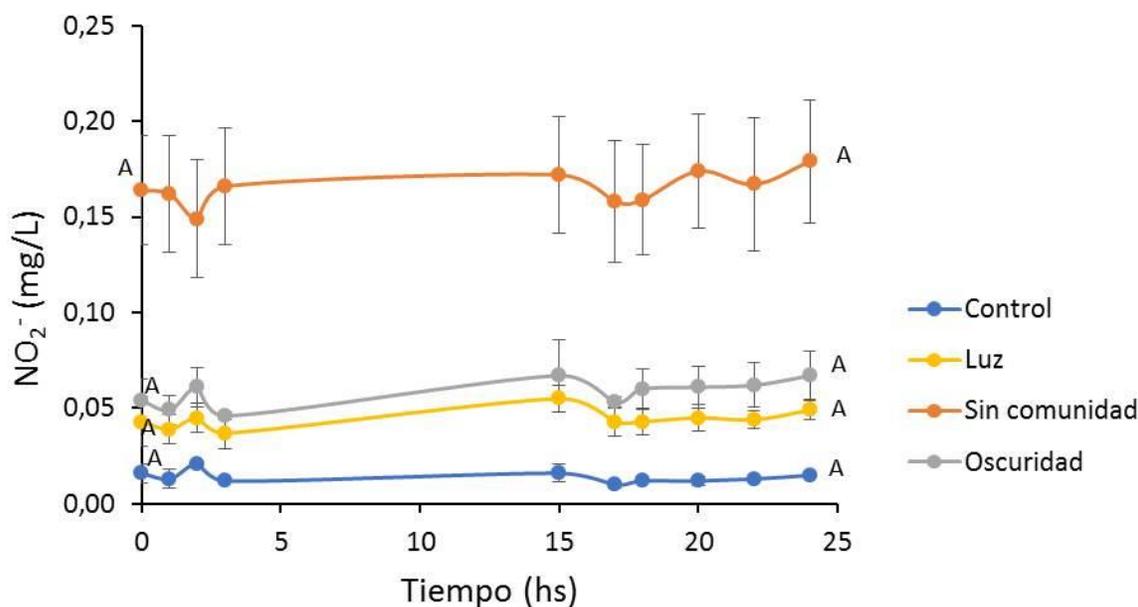


Figura 5.8. Variaciones de la concentración de nitrito (NO_2^-) en el agua en circulación a lo largo del tiempo en cada uno de los tratamientos y en el control del método. Las barras de error representan el error estándar. Las distintas letras representan diferencias significativas entre el tiempo inicial y final dentro de cada tratamiento.

El análisis de la concentración de nitrógeno total (NT) inicial y final en el sedimento de cada tratamiento corrobora los resultados encontrados en el agua. No se encontraron diferencias significativas ($p = 0,415$) entre los distintos tratamientos (Tabla 5.13) y dentro de cada uno, las concentraciones a tiempo inicial y final no difirieron significativamente ($p = 0,508$) entre sí (Figura 5.9).

Tabla 5.13. Resultado del GLMM realizado para comparar las variaciones en el nitrógeno total (NT) presente en el sedimento de cada tratamiento a tiempo inicial y a tiempo final. Se utilizó al tratamiento y al tiempo como efectos fijos.

NT en el sedimento (mg/g)			
Fuente de variación	df	F	p
Tratamiento	2	0,948	0,415
Tiempo	1	0,465	0,508
Interacción	2	0,089	0,915

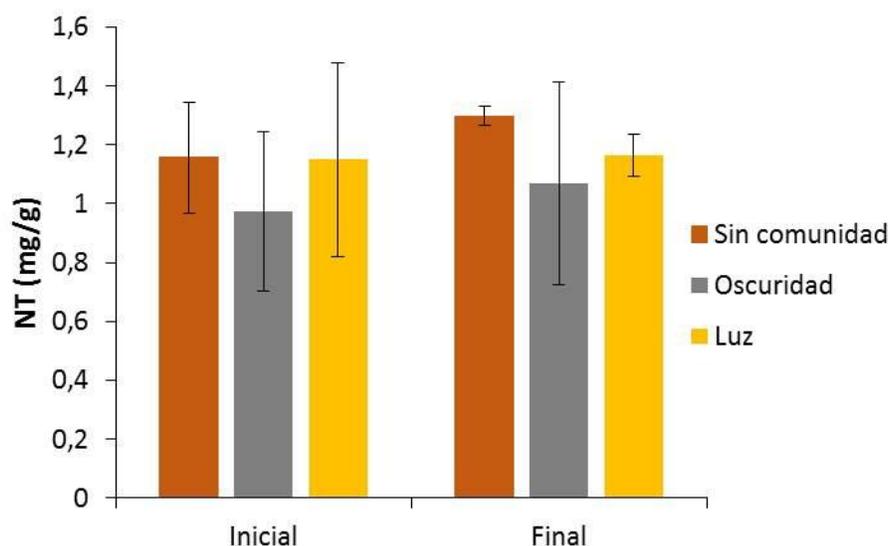


Figura 5.9. Concentración de nitrógeno total (NT) en mg de nitrógeno por g de sedimento en el tratamiento autoclavado (sin comunidad), el expuesto a la oscuridad y el expuesto a la luz (luz), al inicio (0 horas) y al final (24 horas) del experimento. Las barras de error representan el error estándar.

Discusión

Los resultados del presente capítulo indican que los procesos de captación autotrófica y heterotrófica por parte del epipelon representan un efecto significativo en la retención de fosfato y que la captación abiótica de fosfato en los sedimentos parece ser un proceso significativo sólo en el corto plazo. En lo que respecta a la retención de amonio, a diferencia de lo obtenido en los experimentos de campo (capítulo 4), los resultados de este experimento evidencian un predominio de la influencia de los procesos de captación heterotrófica del epipelon por sobre la autotrófica en la retención total de amonio. Por el contrario, la influencia de la captación abiótica de amonio en el sedimento junto con la nitrificación, resultaron ser procesos de menor importancia.

Retención de fosfato

En general, el perifiton (como epipelon y como epifiton) tiende a aumentar la retención de P y la deposición. Experimentos piloto en el sur de Florida han demostrado que alrededor de la mitad del P total que ingresa al sistema puede ser removido del agua en los humedales artificiales dominados por biofilm algales (Dodds 2003). Los resultados del presente estudio muestran evidencias de que el epipelon del arroyo de la Cruz pudo eliminar más del 30% (26-35) del PRS del agua sugiriendo que la captación autotrófica desde la columna de agua puede ser un mecanismo de retención de fosfato importante en el arroyo estudiado. De todas maneras, debe tenerse en cuenta que, como la irradiancia bajo la cual se trabajó en los arroyos artificiales fue baja, es posible que el epipelon contribuya con una fracción aún mayor que la observada a la retención total de fosfato.

Por otro lado, estudios recientes han sugerido que la presencia de perifiton en la interfase agua-sedimento puede disminuir, no sólo el contenido de P en el agua circundante, sino también la liberación de P desde el sedimento (Wu *et al.* 2010, Zhang *et al.* 2013, Lu *et al.* 2016). Esto sugiere que la función del perifiton en los ecosistemas acuáticos es de gran importancia no sólo a través de la captación directa sino también mediante procesos indirectos que su presencia y actividad determinan. El alto pH causado por la actividad fotosintética del perifiton, por ejemplo, estimula la deposición de carbonato, y el Ca asociado a éste puede unirse, a su vez, al P inorgánico disuelto en el agua (Dodds 2003). En los arroyos pampeanos, que poseen altas concentraciones de carbonatos en sus sedimentos,

este mecanismo de remoción por parte del perifiton podría ser un importante factor de inmovilización de P. Sin embargo, esto no se vio reflejado en los resultados del presente experimento. Las concentraciones de fósforo total en el tratamiento expuesto a la luz no variaron significativamente entre el comienzo y el final del experimento, corroborando que las disminuciones de PRS en el agua se debieron, principalmente, a la captación directa por parte del epipelon.

En un estudio de experimentos de adición en pantanos de Belice dominados por epipelon, Rejmankova y Komárková (2000) señalaron a la adsorción abiótica como el posible mecanismo responsable del P no recuperado (48-72%). Así mismo, también se ha sugerido como un mecanismo eficaz para la eliminación de P en los Everglades agrícolamente enriquecidos (Grimshaw *et al.* 1993). Sin embargo, en una serie de estudios de laboratorio y de campo en los mismos Everglades, Scinto y Reddy (2003) encontraron que la demanda biológica de P excedió siempre la adsorción abiótica de P al CaCO_3 . De esta forma, concluyeron que era poco probable que la adsorción por sí sola explicara el P no recuperado en los estudios de adición de Belice (Rejmankova y Komárková 2000). En el arroyo De la Cruz, la captación abiótica de P en el sedimento resultó ser un proceso significativo sólo en el corto plazo (dos días). Otros estudios de retención de P en sedimento realizados en canales artificiales también han demostrado una disminución rápida del PRS con el tiempo cuando se añaden altas concentraciones de P al sistema (Li *et al.* 2016). Esto indica que algunos sedimentos poseen una alta afinidad por el P y responden rápidamente a los ingresos de este nutriente, pudiendo amortiguar la carga de P proveniente de la cuenca (McDowell y Sharpley 2003, Shigaki *et al.* 2008, Rogers *et al.* 2013, Li *et al.* 2016). La rápida captación indica que los sedimentos del arroyo De la Cruz podrían actuar como sitios de almacenamiento temporal. Sin embargo, debe tenerse en cuenta el hecho de que este proceso puede ser reversible (Lu *et al.* 2014a). Transcurridas las 53 horas, el fósforo podría entrar en equilibrio y producirse el proceso inverso, es decir, su liberación. Al final del experimento, en el tratamiento sin comunidad, el porcentaje de PRS en el agua no difirió significativamente del inicial, lo que ratificó que, si bien existió un proceso de captación abiótica de fósforo en el sedimento hasta las 53 horas de transcurrido el pulso de adición, posteriormente, ocurrió un proceso de liberación de fósforo al agua. Así mismo, el análisis de la concentración de fósforo total en el sedimento corroboró los resultados

encontrados en el agua. Sin embargo, del 33% del PRS removido a las 53 horas, sólo un 14 % fue devuelto al agua. Esta cantidad es consistente con la reportada por Shigaki *et al.* (2008), quienes informaron que hasta un 30% del P unido a los sedimentos fue liberado de vuelta a la columna de agua en sedimentos de zanjas de drenaje agrícolas.

Bajo condiciones iluminadas, la saturación de O₂ resultante de la fotosíntesis del perifiton mantiene la superficie de los sedimentos oxidados. Si la columna de agua por encima de los sedimentos se convierte en anóxica, los complejos de metal-fosfato presentes en el sedimento pueden disociarse y por consiguiente, el fosfato puede entrar en la columna de agua. En condiciones anóxicas, los compuestos orgánicos de P también son más propensos a entrar en el agua (Golterman 1995). Si una gran masa de perifiton muere o se ve expuesta a condiciones de poca luz, la respiración puede causar anoxia, lo que podrá llevar a mayores tasas de difusión de P desde el sedimento al agua (Dodds 2003). Es posible que este fenómeno se haya producido durante el transcurso del experimento en el tratamiento expuesto a la oscuridad, enmascarando por completo el efecto de la captación heterotrófica que se buscaba analizar y explicando la ausencia de variación de PRS en el agua de este tratamiento. Esta liberación de P debida a la autólisis del biofilm puede haber compensado la captación heterotrófica y la captación abiótica en el sedimento haciendo imperceptible o, prácticamente, nula la disminución de fósforo en el agua de este tratamiento.

Retención de amonio

Los mecanismos de retención de amonio en el fondo de un arroyo, pueden ocurrir a través de la captación biológica (por asimilación de los organismos), como a través de la adsorción al sedimento o a detritos orgánicos (Triska *et al.* 1994). A su vez, estos dos procesos pueden interactuar, como por ejemplo, cuando el amonio adsorbido es captado por los microorganismos. Los resultados de nuestro experimento evidencian una mayor influencia de los procesos de captación biológica. La disminución de la concentración de NH₄⁺ en el agua del tratamiento expuesto a la luz y en el sedimento expuesto a la oscuridad fue similar entre ambos, lo que sugiere un predominio de los procesos de captación heterotrófica por sobre los de captación autotrófica. En un estudio realizado en arroyos de cabecera de América del Norte, Peterson *et al.* (2001) encontraron que los mismos son muy

efectivos en remover y transformar el N inorgánico disuelto desde la columna de agua debido a su alta actividad biológica combinada con el aumento en el tiempo de contacto entre el sedimento y el agua. En estos arroyos, el amonio fue removido del agua principalmente por asimilación tanto de los organismos fotosintéticos (algas unicelulares, filamentosas y briofitas) como heterotróficos (bacterias y hongos) así como por adsorción a los sedimentos, y secundariamente, por nitrificación. Así mismo, en un trabajo llevado a cabo en arroyos vegetados de Dinamarca, Riis *et al.* (2012) compararon sitios dominados y no dominados por macrófitas y encontraron que en los hábitats no dominados por macrófitas, las tasas de captación de NH_4^+ estuvieron altamente dominadas por una mezcla de captación directa por parte de las microalgas bentónicas autotróficas y heterotróficas y por la adsorción al sedimento, y concluyeron que esta alta tasa de captación registrada se debía al alto desarrollo de la agricultura en la zona. En concordancia con los resultados de Peterson *et al.* (2001) y Riis *et al.* (2012), en este experimento, los procesos de captación biológica del epipelon fueron los principales factores que influyeron en la retención total de amonio siendo la captación heterotrófica del epipelon la de mayor predominio sobre la retención total de amonio. Algo similar fue observado en dos arroyos de Nueva Zelanda por Simon *et al.* (2005), quienes atribuyeron las altas retenciones, tanto de fósforo como de amonio, y la poca variación estacional a una mayor demanda heterotrófica y a la adsorción al sedimento por sobre la demanda de los autótrofos. De todas maneras, debe tenerse en cuenta que, como la irradiancia bajo la cual se trabajó en los arroyos artificiales fue baja, es posible que la fracción autotrófica del epipelon contribuya con una porción mayor que la observada experimentalmente a la retención total de amonio.

Por otro lado, la mayor captación heterotrófica registrada en nuestro experimento no se vio reflejada en un aumento de las concentraciones de nitritos y nitratos como podría haberse esperado mediante el proceso de nitrificación. Debe tenerse en cuenta que estos experimentos contaron con un bajo número de réplicas ($n = 3$) a causa de la limitación del material experimental, y que, en algunos casos, la variabilidad entre ellas fue bastante alta. La variabilidad entre las réplicas determina el límite de detección de los efectos causados por el factor estudiado y éste sólo podrá ser detectado si esa variación es superada (Guasch y Serra 2009). Es posible que la causa de que no se visualizara el efecto de la nitrificación haya tenido que ver con esta limitación.

Entre los arroyos templados, los factores que controlan el proceso de nitrificación han generado resultados encontrados. Generalmente, la nitrificación ocurre en el sedimento y en los biofilm (Stream Solute Workshop 1990) y requiere de oxígeno y amonio para que se produzca. En un arroyo forestado de América del Norte, Tank *et al.* (2000) encontraron que la nitrificación resultó ser prácticamente nula y lo atribuyeron a las bajas concentraciones de amonio y a la baja calidad del sedimento de los arroyos para la colonización de bacterias nitrificantes. Del mismo modo, en un estudio de 11 arroyos en el Parque Nacional Grand Teton, Hall y Tank (2003) atribuyeron las muy bajas tasas de nitrificación no sólo a las bajas concentraciones basales de amonio sino a la alta disponibilidad de materia orgánica lábil. En contraste, en otros arroyos templados así como en algunas épocas del año en los experimentos de campo realizados en esta tesis (capítulo 4), hasta cerca de un 40 % del total del amonio retenido del agua del arroyo fue atribuido a la nitrificación directa (Dodds *et al.* 2000, Mulholland *et al.* 2000, Ashkenas *et al.* 2004, Deegan *et al.* 2011). Si bien en estos experimentos con canales artificiales la nitrificación no ha sido detectada como un factor relevante en la captación total de amonio, en base a los experimentos de campo y en concordancia con la mayoría de los estudios previos, la misma no puede descartarse como un factor influyente en la retención total de amonio en los arroyos estudiados.

Según estudios previos, la adsorción de amonio al sedimento ha sido mencionada como un importante mecanismo de retención de nitrógeno (Peterson *et al.* 2001, Bernot y Dodds 2005, Simon *et al.* 2005, Riis *et al.* 2012), especialmente, cuando se adicionan concentraciones elevadas de amonio al sistema (Boatman y Murray 1982, Triska *et al.* 1994, Gücker y Boëchat 2004). Según un estudio realizado en arroyos agrícolas de Estados Unidos, Ford *et al.* (2015) encontraron que la adsorción resultó ser un mecanismo importante en la variabilidad del nitrógeno durante el invierno y la primavera temprana. Por el contrario, en verano y en otoño, cuando el contenido de carbono orgánico fue elevado debido a la acumulación de biomasa algal en la superficie de los sedimentos, el mecanismo de adsorción resultó ser pequeño. Contrario a lo esperado, y en concordancia con los resultados de Ford *et al.* (2015) de verano y otoño, la influencia de la captación abiótica de amonio en el sedimento en el presente estudio resultó ser un proceso de menor importancia. Si bien en los sedimentos sin comunidad existió una disminución del amonio en el agua, la

misma no fue detectada como un efecto significativo con respecto al control. Sin embargo, en este tratamiento se observó una clara disminución del amonio con más del 40% del amonio inicial removido del agua. Es posible que, dado que en el control del método también se produjo una disminución del amonio en el agua por causas específicas de la toma de muestras, el análisis estadístico no detectara esa disminución en los sedimentos sin comunidad como significativa con respecto a la del control. De todas maneras, el nitrógeno total en el sedimento tampoco mostró diferencias significativas entre las concentraciones iniciales y finales. Por lo tanto, los resultados obtenidos no evidencian que la captación abiótica de amonio en el sedimento sea un factor de considerable importancia en la retención total de amonio en el arroyo estudiado.

Conclusiones

Partiendo de la hipótesis de que la captación abiótica en el sedimento es un factor que regula la retención de nutrientes en los arroyos pampeanos, los objetivos planteados en este capítulo fueron determinar la influencia de los procesos de captación abiótica de fosfato y amonio en el sedimento y analizar la importancia relativa de la captación autotrófica y heterotrófica del epipelon sobre la retención de ambos nutrientes. Los resultados indican que los procesos de captación autotrófica y heterotrófica por parte del epipelon representan un efecto significativo en la retención de fosfato y que la captación abiótica de este nutriente en el sedimento podría ser un proceso significativo sólo a corto plazo. En lo que respecta a la retención de amonio, los resultados de este experimento evidencian un predominio de la influencia de los procesos de captación heterotrófica del epipelon por sobre la autotrófica en la retención total de amonio. Por otro lado, la nitrificación y la captación abiótica de amonio en el sedimento resultaron ser procesos de menor importancia. Por consiguiente, nuestros resultados brindan evidencia parcial a favor de nuestra hipótesis.

En base a los experimentos realizados en el campo, nosotros predecíamos que en sedimentos libres de actividad biológica también habría retención de nutrientes. Para el caso del fosfato la captación abiótica fue un proceso significativo sólo en el corto plazo, ya que luego de las 53 horas de transcurrido el experimento, ocurrió un proceso de liberación

del fosfato captado. Sin embargo, en los sedimentos libres de actividad, sólo un 15 % del PRS removido a las 53 horas fue devuelto al agua. Por lo tanto, la captación abiótica en los sedimentos no puede descartarse como un mecanismo que contribuye a la retención total de fosfato en el arroyo estudiado. En el caso del amonio, si bien en los sedimentos libres de actividad hubo una disminución de amonio en el agua, con más del 40% del amonio inicial removido, la misma no fue detectada como un efecto estadísticamente significativo con respecto al control. Por lo tanto, la captación abiótica de amonio en el sedimento no resultó ser un factor relevante en la retención de amonio en el arroyo estudiado.

Capítulo 6- Discusión general y conclusiones

Introducción

La retención se define como la capacidad de los arroyos de transformar y eliminar nutrientes de la columna de agua a través de procesos químicos, físicos y biológicos y retenerlos de una forma tal que, en condiciones normales, no suele ser de fácil liberación (Reddy 1999). Esta capacidad de "autodepuración" (McColl 1974, Elosegui *et al.* 1995) tiene el potencial para regular la exportación de nutrientes a los ecosistemas aguas abajo, tales como lagos, ríos y, eventualmente, el mar (Alexander *et al.* 2000). Los estudios llevados a cabo en un amplio rango geográfico y climático proporcionan evidencia de la alta eficiencia de los arroyos de retener nutrientes (Sebetich *et al.* 1984, Mulholland *et al.* 1985, 2008b, Triska *et al.* 1989, Munn y Meyer 1990, D'Angelo y Webster 1991, Martí y Sabater 1996, Martí *et al.* 1997, Peterson *et al.* 2001, Merseburger *et al.* 2011).

El análisis de las transformaciones biogeoquímicas en arroyos es fundamental para ampliar nuestra visión acerca de cómo funciona la retención de nutrientes y cuáles son sus determinantes geomorfológicos y biológicos. En arroyos pampeanos, la retención de nutrientes ha sido escasamente estudiada (Feijoó *et al.* 2011, Rodríguez Castro 2015), y el análisis de los principales factores que influyen en esta importante función ecosistémica nunca habían sido abordados hasta el momento. Asimismo, a nivel mundial, existen muy pocos trabajos donde la función de retención haya sido asociada a la actividad metabólica de los diferentes compartimentos basales (ver por ej. Fellows *et al.* 2006).

En la presente Tesis se analizó la retención de fosfato y amonio en dos arroyos pampeanos así como la captación abiótica de ambos nutrientes en el sedimento con el objetivo de determinar y analizar los principales factores que influyen en la retención de estos nutrientes en los arroyos estudiados. A partir de los resultados obtenidos, se pretendió ampliar el escaso conocimiento con el que se cuenta en relación al tema para los arroyos de la región y brindar información de base para futuras investigaciones y posibles estrategias de manejo que minimicen los impactos negativos de la contaminación difusa.

Capacidad de retención y falta de saturación en la captación de nutrientes

Durante las últimas dos décadas, se ha producido, en la región pampeana, un proceso de intensificación tanto de la agricultura como de la ganadería. El impacto negativo de estos sistemas más intensivos sobre el ambiente es inevitable, ya que implican un uso creciente de insumos potencialmente contaminantes como fertilizantes, plaguicidas, alimentos concentrados, combustibles fósiles, etc. (Viglizzo *et al.* 2006). Debido a que sólo una parte de los fertilizantes aplicados es tomada por las plantas, una mayor intensificación puede causar excesos de nutrientes en los suelos (Viglizzo y Jobbágy 2006) que pueden llegar a los cursos de agua por escorrentía y generar una presión sobre los mismos.

En los experimentos de adición realizados en campo (capítulo 4) se observó que las tasas de captación de PRS y de NH_4^+ en los arroyos estudiados resultaron ser muy elevadas en comparación con otros sistemas fluviales del mundo (Tabla 4.3) y similares a las estimadas en arroyos de la región (Feijóo *et al.* 2011, Rodríguez Castro 2015).

Como ha sido mostrado en numerosas investigaciones previas (Davis y Minshall 1999, Dodds *et al.* 2002, O'Brien *et al.* 2007, Hoellein *et al.* 2007), los cambios en las concentraciones basales de los arroyos pueden influenciar las métricas de retención. Los modelos que describen la relación entre la tasa de asimilación (U) y la concentración (capítulo 1, O'Brien *et al.* 2007) omiten el hecho de que ambos están autocorrelacionados, ya que U se calcula utilizando la concentración. Más allá de que numerosos trabajos han sido publicados explorando estas relaciones de forma directa sin considerar este hecho (Dodds *et al.* 2002, Nigoyi *et al.* 2004, Haggard *et al.* 2005, O'Brien *et al.* 2007, O'Brien y Dodds 2008, Lehto y Hill 2013, entre otros) en este estudio, se optó por estandarizar las tasas de captación por la biomasa de los compartimentos basales, de forma de lograr una independencia de esta autocorrelación. De una u otra manera, en los arroyos estudiados se encontró que, tanto sin estandarizar (datos no mostrados) como estandarizada por todos los compartimentos basales estudiados, (Figura 4.13), la tasa de captación de PRS ajustó a un modelo exponencial con el aumento de la concentración, mientras que la tasa de captación de NH_4^+ ajustó a un modelo lineal. Esto implica que, para el amplio y alto rango de concentraciones basales observadas en los arroyos estudiados a lo largo de las diferentes

estaciones del año, no hubo saturación para ambos nutrientes. Este tipo de relaciones entre la tasa de captación y la concentración de nutrientes puede esperarse, en general, en arroyos prístinos, donde las tasas de captación no se encuentran saturadas y se produce variación en las concentraciones de nutrientes (Dodds *et al.* 2002, Mulholland *et al.* 2002). Sin embargo, la presente tesis aporta evidencias de que estas relaciones también son válidas para arroyos crónicamente eutróficos.

Las posibles explicaciones a esta falta de saturación fueron desarrolladas en la discusión del capítulo 4, pero en resumen se proponen dos posibilidades. La primera es que, debido a las altas concentraciones basales crónicas que presentan estos arroyos, las comunidades basales podrían estar adaptadas a estas condiciones enriquecidas, mostrando una demanda proporcionalmente mayor a niveles de nutrientes más altos y presentando umbrales de saturación que, dentro de las concentraciones evaluadas, no fueron alcanzados. La otra posibilidad es que la alta captación se mantendría debido a la diversidad tanto de compartimentos basales que se alternan a lo largo del año, como debido a la alta diversidad funcional de las especies presentes dentro de estos. Para evaluar ambas hipótesis y sus posibles implicancias será necesario realizar nuevas investigaciones que generen mayor información tanto de campo como experimental.

Los modelos que describen la relación entre las tasas de procesamiento biológico y la concentración de nutrientes en arroyos asumen una pérdida de la eficiencia (expresada como V_f) con el aumento de la concentración de nutrientes (ya sea por saturación o por pérdida de eficiencia *per se*) o, directamente, la ausencia de variación en la eficiencia del procesamiento de nutrientes con el aumento de la concentración (capítulo 1, Figura 1.5). Sin embargo, los resultados de los experimentos de campo (capítulo 4) evidencian una mayor eficiencia en la captación de PRS a medida que la concentración basal aumenta.

Estos resultados obtenidos en la presente tesis ponen de manifiesto la importancia de los arroyos de cabecera de la región pampeana en los procesos de “autodepuración”, tanto del fosfato (Palmeri 2002) como del amonio (Peterson *et al.* 2001) y la función clave de este servicio ecosistémico, dado que pueden regular y disminuir las exportaciones de nutrientes generadas a causa de los ingresos terrestres. Por lo tanto, al momento de desarrollar mejores prácticas de gestión y manejo para una cuenca de drenaje es importante tener en cuenta y considerar la contribución de los arroyos en la retención de nutrientes. Las

prácticas del uso de suelo en las tierras adyacentes (punto que aún no ha sido considerado por la legislación argentina), junto con los procesos que ocurren en los arroyos, deben ser considerados en conjunto dentro de las opciones de manejo de nutrientes.

De todas formas es necesario tener en cuenta que, si bien para las concentraciones basales observadas, no se produjo saturación en las tasa de captación de ninguno de los nutrientes estudiados, resulta lógico suponer que existe una concentración umbral a la cual estos sistemas se saturan, por lo que no debería llevarse al límite la capacidad de procesamiento que los mismos ofrecen. Así mismo, si bien la alta diversidad de productores primarios y su composición específica pueden limitar el flujo de nutrientes aguas abajo, eventualmente, los nutrientes tomados podrán ser transportados río abajo en formas orgánicas disueltas o en suspensión (Nigoyi *et al.* 2004). Más aún, es necesario considerar que los ingresos terrestres también pueden incluir tóxicos que podrían alterar la capacidad de procesamiento analizada en la presente tesis (Gómez *et al.* 2008, Peruzzo *et al.* 2008). En consecuencia, los problemas de calidad del agua no pueden ser mitigados de manera eficiente con sólo confiar en la retención natural de nutrientes. La retención en arroyos sólo podrá ser eficaz cuando la carga excesiva de nutrientes sea reducida a través de medidas que disminuyan los impactos ocasionados por la contaminación (Gücker y Pusch 2006).

Según Amuchástegui *et al.* (2016), las medidas de manejo deberían focalizarse en reducir el uso agrícola al menos en una zona buffer de 200 m adyacente a ambos márgenes de los arroyos. El mantenimiento de zonas ribereñas de vegetación herbácea natural donde el ganado y los cultivos estén excluidos podría ayudar a mejorar el impacto de las actividades agrícolas en la calidad del agua, mejorando la totalidad de la integridad ecológica de los arroyos pampeanos. A su vez, en función de los resultados de la presente tesis y las posibles hipótesis sugeridas para explicar la falta de saturación, no puede pasarse por alto la necesidad de prácticas de manejo que contemplen el mantenimiento de la diversidad de especies y de compartimentos basales presentes en los arroyos dada su posible implicancia en las altas tasas de retención de nutrientes.

Factores que influyen en la retención de nutrientes

Como fue descrito en el capítulo 1, en los ecosistemas lóticos, la retención de nutrientes resulta de la interacción de propiedades hidrológicas, químicas y biológicas (Figura 1.1). La retención hidrológica se produce cuando el agua entra en trayectorias de flujo que se mueven más lento que la velocidad de advección del canal principal, generando un mayor tiempo de residencia del agua, lo que favorece la exposición de los nutrientes disueltos a sustratos bioquímicamente reactivos. Estas zonas de retención transitoria (ZRT) han sido propuestas como uno de los factores determinantes de la retención de nutrientes (Webster *et al.* 2003), y en los arroyos dominados por macrófitas, el área relativa de la ZRT ha sido asociada al crecimiento de las plantas que induce, a su vez, cambios en el caudal y en los patrones de intercambio en el hiporreico (Salehin *et al.* 2003, Gücker y Boechat 2004).

Los resultados de los experimentos de campo (capítulo 4) mostraron una asociación entre el área relativa de la ZRT (A_s/A) y el caudal, sugiriendo que, en los arroyos estudiados, el almacenamiento transitorio está principalmente impulsado por la hidrología y no dependería de la abundancia de la vegetación acuática o del desarrollo de la zona hiporreica. Ante un evento de lluvia, el caudal de estos arroyos suele aumentar considerablemente, lo que implicará una disminución de la ZRT y, por consiguiente, de la retención de nutrientes. Teniendo en cuenta que una importante cantidad de fosfato y amonio llega a los arroyos inmediatamente después de estos eventos, es posible que gran parte de estos ingresos no puedan ser procesados y sean transportados río abajo, disueltos en el agua. Es importante considerar estos aspectos a la hora de desarrollar mejoras en las prácticas del uso de suelo en las tierras adyacentes. Los riesgos de contaminación por nutrientes pueden reducirse en función de la hidrología del lugar, evitando fertilizar en épocas de grandes excedentes hídricos que puedan transportar los solutos hacia fuentes de agua subterránea o cuerpos de agua superficiales (Viglizzo y Jobbágy 2006).

Factores que influyen en la retención de fosfato

Los principales mecanismos de retención de fosfato en arroyos incluyen la captación biótica, la adsorción y la co-precipitación (con la posterior deposición del P

adsorbido o precipitado). Los resultados obtenidos en los experimentos de campo indican que la retención de fosfato en los arroyos estudiados es impulsada, principalmente, por la demanda heterotrófica. Sin embargo, los autótrofos también contribuyen en la captación total de este nutriente. En particular, la captación por parte del epipelon (capítulo 5) representó un efecto significativo en la retención total de fósforo. Así mismo, la tasa de captación de PRS estandarizada por la biomasa mostró relaciones similares con la concentración de PRS para todos los compartimentos basales (capítulo 4), lo que muestra una co-variación de la captación de fosfato y la abundancia de las comunidades ante el aumento de la concentración de PRS. Por otro lado, la captación abiótica de fosfato en los sedimentos (capítulo 5) es otro mecanismo de retención de este nutriente que opera al mismo tiempo que la captación biótica. A través de los ensayos con canales artificiales, se observó que entre las 30 y las 53 hs de transcurrido el pulso de adición, los sedimentos del arroyo De la Cruz pudieron captar hasta un 33% del PRS del agua. Esto indica que los sedimentos de este arroyo podrían actuar como sitios de almacenamiento temporal. Sin embargo, gracias al plazo de duración elegido para el experimento, se pudo observar que la mayor parte de este proceso es reversible, ya que de ese 33% captado, la mitad fue devuelta al agua. Por lo tanto, si bien la captación abiótica de fosfato podría amortiguar la carga proveniente de la cuenca, debe tenerse en cuenta que este efecto es sólo significativo en un corto plazo.

A modo de resumen, en la Figura 6.1 se esquematizan los principales factores encontrados que influyen en la retención de fosfato en los arroyos estudiados en el presente trabajo de tesis.

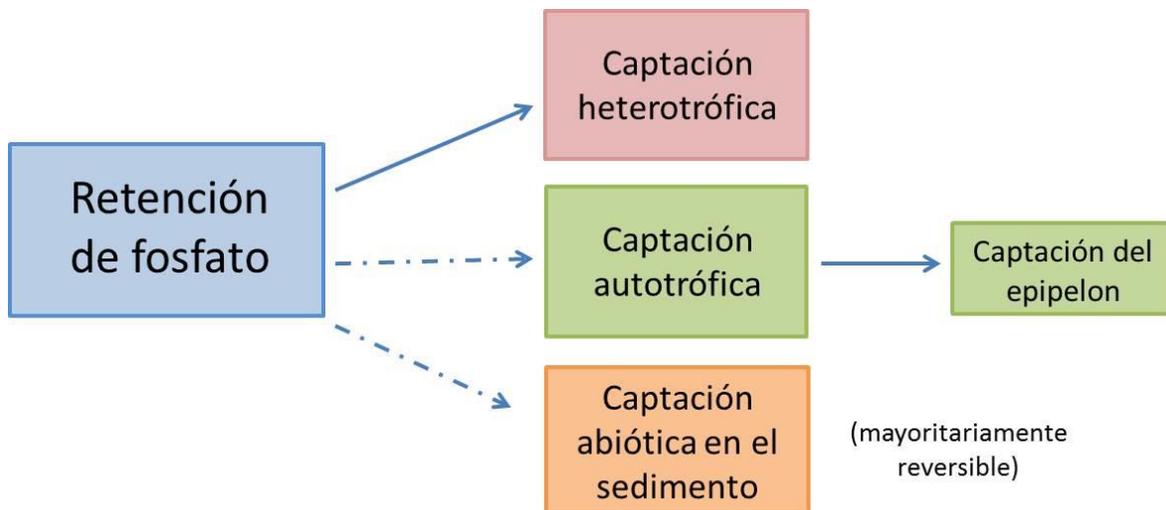


Figura 6.1. Principales factores encontrados que influyen en la retención de fósforo en los arroyos estudiados en el presente trabajo de tesis. Con línea continua se destacan los más importantes y con línea punteada los de menos influencia.

Factores que influyen en la retención de amonio

Los mecanismos de retención de NH_4^+ en arroyos pueden ocurrir a través de la captación biológica o la adsorción al sedimento (capítulo 1, Bernot y Dodds 2005). En los experimentos de campo realizados en la presente tesis (capítulo 4), se observó que la retención de NH_4^+ en los arroyos estudiados, aumenta bajo condiciones más autotróficas y que la demanda autotrófica del epipelon tiene una mayor influencia sobre esta función en relación a los demás compartimentos basales. Así mismo, con los ensayos en canales artificiales (capítulo 5) se observó que la captación tanto autotrófica como heterotrófica del epipelon tuvo una clara influencia en la retención total de amonio. Esto es consistente numerosos trabajos previos que remarcan la importancia de los arroyos de cabecera en el procesamiento de N y la influencia que los mismos ejercen en su exportación río abajo (Alexander *et al.* 2000, Sabater *et al.* 2000, Peterson *et al.* 2001).

Por otro lado, la captación autotrófica directa no puede distinguirse, a través de los experimentos de adición, de otros procesos de remoción de N mediados por bacterias, como la nitrificación. Por lo tanto, a modo de aproximación, los aportes de la nitrificación a la retención de amonio medida (capítulos 4 y 5) fueron estimados en relación a las variaciones de nitritos y nitratos producidas en el agua (capítulo 3). De acuerdo a los resultados de

campo (capítulo 4), la nitrificación podría explicar hasta cerca de un 40% de la retención total de NH_4^+ en los arroyos estudiados, en algunos períodos del año. Por el contrario, en los ensayos con canales artificiales (capítulo 5) la disminución de la concentración de amonio observada en el agua no pudo ser atribuida a la nitrificación. De todas formas, debe tenerse en cuenta que en estos experimentos sólo se contaba con una comunidad presente bajo estudio, el epipelon, y que sólo se analizó una medida puntual, a diferencia de los experimentos de campo que reflejaron la variación estacional. Por lo tanto, se concluye que es posible que los biofilm heterotróficos también influyan en la retención de NH_4^+ a través de la captación directa (capítulos 4 y 5) o mediante la nitrificación (capítulo 4), pero esta contribución se da de forma proporcionalmente menor en comparación con la demanda autotrófica.

Por otro lado, si bien la adsorción de amonio al sedimento ha sido reportada como un mecanismo influyente en la retención total amonio en numerosos estudios previos (Peterson *et al.* 2001, Simon *et al.* 2005, Riis *et al.* 2012), en los arroyos estudiados (capítulo 5), resultó ser un proceso de menor importancia.

En la Figura 6.2 se resumen los principales factores encontrados que influyen en la retención de amonio en los arroyos estudiados en el presente trabajo de tesis.

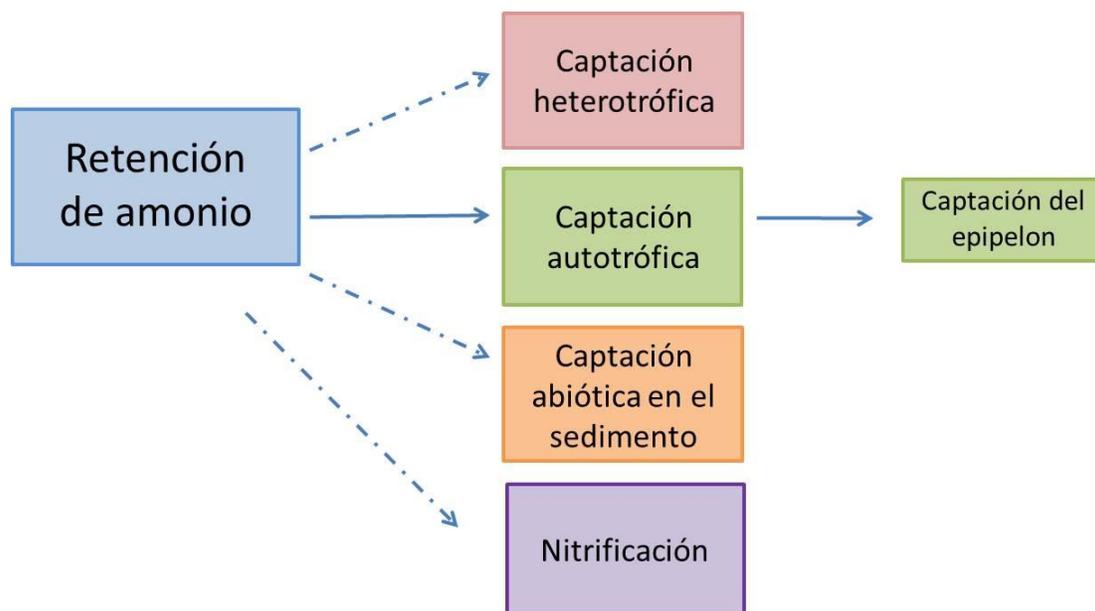


Figura 6.2. Principales factores encontrados que influyen en la retención de amonio en los arroyos estudiados en el presente trabajo de tesis. Con línea continua se destacan los más importantes y con línea punteada los de menos influencia.

La función de las macrófitas en la retención de nutrientes

Los arroyos pampeanos se caracterizan por poseer un alto desarrollo y diversidad de comunidades de macrófitas (capítulos 1 y 2). Como fue mencionado en el capítulo 4, debido a la gran cantidad de nutrientes que acumulan en su biomasa y por su eficiencia de retención relativamente alta, las macrófitas pueden manifestar tasas de retención mayores que otros autótrofos (Peipoch *et al.* 2014, Levi *et al.* 2015). Sin embargo, no siempre se ha detectado una clara relación entre la abundancia de macrófitas y la tasa de retención de nutrientes (Riis *et al.* 2012, O'Brien *et al.* 2014). En base a estudios previos realizados en arroyos pampeanos (Feijoó *et al.* 2011), en la presente tesis se esperaba que la retención de nutrientes estuviera asociada principalmente a la captación por parte de los biofilm mientras que las macrófitas presentarían una influencia menor. En función de los resultados obtenidos, el papel de las macrófitas en la retención de nutrientes por captación directa parece ser menor en estos arroyos a pesar de su gran abundancia.

Consideraciones finales

Las mediciones de metabolismo, tanto a nivel de los compartimentos basales como a escala de ecosistema rara vez se han hecho en conjunto en un mismo estudio (Acuña *et al.* 2011) y menos aún, a lo largo de un ciclo anual. Así mismo, vincular las métricas de retención con la actividad metabólica de los diferentes compartimentos basales también ha sido llevado a cabo en escasa cantidad de trabajos. En el presente trabajo de tesis se intentaron dilucidar los principales factores que influyen en la retención de nutrientes en los arroyos pampeanos estudiados. Para ello se utilizaron diferentes aproximaciones (de campo y de laboratorio) que brindaron información complementaria. A su vez, se consideraron funciones metabólicas tanto a escala de ecosistema como de cada compartimento basal y se asociaron las mediciones metabólicas con las métricas de retención de nutrientes. Esto brindó un enfoque original al trabajo realizado que permitió una visión más detallada de los factores que influyen en la retención de nutrientes discriminando los aportes de cada comunidad a la retención tanto de fosfato como de amonio.

Los resultados generados a partir de la presente tesis han sido de considerable relevancia ya que han desafiado algunos de los paradigmas dominantes en el área de

estudio. En primer lugar, porque a pesar de las altas concentraciones basales que presentan los arroyos estudiados, los resultados obtenidos demuestran que la retención de nutrientes fue muy elevada en todas las estaciones del año y comparables a las de arroyos prístinos de otras regiones del mundo. Del mismo modo, y a pesar de ser considerados arroyos eutróficos, las tasas de captación no presentaron saturación dentro del amplio rango de concentraciones observadas para los dos nutrientes estudiados. Y en segundo lugar, porque a pesar de ser arroyos autotróficos con altos valores de producción primaria (Vilches y Giorgi 2010, Acuña *et al.* 2011), se observó que el procesamiento de nutrientes depende tanto de la demanda autotrófica como heterotrófica.

En general, en arroyos sin vegetación arbórea que restrinja la entrada de luz, se asume que la captación de nutrientes está dominada por los organismos autótrofos (Fellows *et al.* 2006). Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos en esta tesis, no se ha podido detectar un dominio evidente de la actividad metabólica o de la biomasa autotrófica sobre la retención de nutrientes, en especial, en relación al fosfato. Por lo tanto, nuevas investigaciones serán necesarias para aclarar la función de la demanda heterotrófica en arroyos autotróficos altamente productivos.

Conclusiones

- A pesar de las altas concentraciones basales de nutrientes presentes en los arroyos estudiados, tanto la retención de PRS como la de NH_4^+ fueron elevadas en comparación con estudios en otras regiones del mundo y confirman la evidencia previa sobre la alta eficiencia en el procesamiento de nutrientes en arroyos de la región.
- Dentro del rango de concentraciones observadas, no hubo saturación en la retención de PRS ni de NH_4^+ .
- $U_{\text{NH}_4^+}$ estandarizado por la biomasa ajustó a un modelo lineal para todos los compartimentos basales, mientras que $V_{\text{f-NH}_4^+}$ y $S_{\text{w-NH}_4^+}$ no presentaron cambios consistentes con la concentración de NH_4^+ , validando el ajuste a un modelo de captación de primer orden.
- La relación entre U_{PRS} estandarizado por la biomasa y la concentración de PRS tuvo un mejor ajuste a un modelo de tipo exponencial. La captación de fosfato fue más eficiente

para niveles de PRS mayores, con una relación entre V_{f-PRS} y la concentración de PRS que aumentó linealmente y una relación entre S_{w-PRS} y la concentración de PRS que disminuyó linealmente, validando al modelo.

- Las métricas de retención no se asociaron con la biomasa de macrófitas.
- El almacenamiento transitorio, en estos arroyos, está principalmente impulsado por la hidrología y no dependería de la abundancia de la vegetación acuática o del desarrollo de la zona hiporreica.
- La retención de fósforo, en los arroyos estudiados, es impulsada, principalmente, por la demanda heterotrófica. Sin embargo, es posible que los autótrofos también contribuyan en la captación total de este nutriente. En particular, la captación por parte del epipelon representó un efecto significativo en la retención total de fósforo.
- La captación abiótica de fósforo en los sedimentos de los arroyos estudiados es otro mecanismo de retención de este nutriente que opera al mismo tiempo que la captación biótica; pero es un proceso, en su mayor parte, reversible y, por lo tanto, sólo significativo a corto plazo.
- La retención de NH_4^+ , en los arroyos estudiados, aumenta bajo condiciones más autotróficas y la demanda autotrófica del epipelon tiene una mayor influencia sobre esta función respecto a otros compartimentos basales.
- Es posible que los biofilm heterotróficos también influyan en la retención de NH_4^+ a través de la captación directa o mediante la nitrificación, pero en un grado proporcionalmente menor en comparación con la demanda autotrófica.
- La influencia de la captación abiótica de amonio en el sedimento resultó ser un proceso de menor importancia en los arroyos estudiados.
- La función de las macrófitas en la retención de nutrientes por captación directa parece ser menor en estos arroyos, a pesar de la gran abundancia que los caracteriza.

Referencias

- Acuña V, Guasch H, Giorgi A, Izagirre O. 2009. Flujo de energía en el ecosistema fluvial. Metabolismo fluvial. En: Elosegui A y Sabater S (eds.). Conceptos y técnicas para el estudio de la ecología de ríos. Fundación BBVA, Bilbao: 367-386.
- Acuña V, Vilches C, Giorgi A. 2011. As productive and slow as a stream can be: the metabolism of a Pampean stream. *Journal of the North American Benthological Society* 30: 71-83.
- Adey W, Luckett C, Jensen K. 1993. Phosphorus removal from natural waters using controlled algal production. *Restoration Ecology* 1: 29-39.
- Alexander RB, Smith RA, Schwarz GE. 2000. Effect of stream channel size on the delivery of nitrogen to the Gulf of Mexico. *Nature* 403: 758-761.
- Allan JD. 2004. Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 257-284.
- Álvarez M, Proia L, Ruggiero A, Sabater F, Butturini A. 2010. A comparison between pulse and constant rate additions as methods for the estimation of nutrient uptake efficiency in-streams. *Journal of Hydrology* 388: 273-279.
- American Public Health Association (APHA) 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. En: Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW y Greenberg AE (eds.). American Public Health Association, 21° ed. 1368pág.
- Aminot A. 1983. Dosage de la chlorophylle et des phéopigment par spectrophotométric. En: Aminot A y Chansspied M (eds.). *Manual des analyses chimiques en Milieu marin* Centre National pour l'Exploitation des Océans, Brest, Francia: 177-189.
- Amuchástegui G. 2006. Relación entre química del agua, características fisiográficas y uso de suelo en arroyos pampeanos, Tesis de Licenciatura de la carrera de Información Ambiental, Universidad Nacional de Luján, Buenos Aires: 70 pág.
- Amuchástegui G, di Franco L, Feijoó C. 2016. Catchment morphometric characteristics, land use and water chemistry in Pampean streams: a regional approach. *Hydrobiologia* 767: 65-79.
- Andersen JM. 1976. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *Water Research* 10: 329-331.

- Andrade MI. 1986. Factores de deterioro ambiental en la cuenca del Río Luján. En: Contribución del Instituto de Geografía. Facultad de Filosofía y Letras, UBA. Buenos Aires, República Argentina. 224 pág.
- Arber A. 1920. *Water Plants. A Study of Aquatic Angiosperms*. Cambridge University Press, Cambridge. 436 pág.
- Argerich A, Martí E, Sabater F, Ribot M, von Schiller D y Riera JL. 2008. Combined effects of leaf litter inputs and a flood on nutrient retention in a Mediterranean mountain stream during fall. *Limnology and Oceanography* 53: 631-641.
- Ashkenas LR, Johnson SL, Gregory SV, Tank JL, Wolheim WM. 2004. A stable isotope tracer study of nitrogen uptake and transformation in an old-growth forest stream. *Ecology* 85: 1725-1739.
- Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Casanoves F, Di Rienzo JA, Robledo CW. 2008. *Infostat. Manual del Usuario*, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.
- Barlow K, Nash D, Grayson R. 2004. Investigating phosphorus interactions with bed sediments in a fluvial environment using a recirculating flume and intact soil cores. *Water Research* 38: 3420-3430.
- Battin TJ, Kaplan LA, Denis Newbold J, Hansen CME. 2003. Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms. *Nature* 426: 439-442.
- Bauer D. 2009. *Ecología del fitoplancton de arroyos pampeanos y su valor como indicador de la calidad del agua*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires: 262 pág.
- Bentzen E, Taylor WD, Millard ES. 1992. The importance of dissolved organic phosphorus to phosphorus uptake by limnetic plankton. *Limnology and Oceanography* 37: 217-231.
- Bernhardt ES, Likens GE, Buso DC, Driscoll CT. 2003. In-stream uptake dampens effects of major forest disturbance on watershed nitrogen export. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100: 10304-10308.
- Bernot MJ, Dodds WK. 2005. Nitrogen retention, removal, and saturation in lotic ecosystems. *Ecosystems* 8: 442-453.
- Blasi A, Castiñeira Latorre C, Del Puerto L, Prieto AR, Fucks E, De Francesco C, Hanson PR, García-Rodríguez F, Huarte R, Carbonari J, Young A. 2010. Paleoambientes de la cuenca media del río Luján (Buenos Aires, Argentina) durante el último período glacial

- (EIO 4-2). *Latin American Journal of sedimentology and basin analysis* 17: 85-111. Versión on-line ISSN 1851-4979.
- Boar RR, Lister DH, Clough WT. 1995. Phosphorus loads in a small groundwater-fed river during the 1989-1992 East Anglian drought. *Water Research* 29: 2167-2173.
- Boatman CD, Murray JW. 1982. Modeling exchangeable NH_4^+ adsorption in marine sediments; process and controls of adsorption. *Limnology and Oceanography* 27: 99-110.
- Boelee N, Temmink H, Janssen M, Buisman C, Wijffels R. 2011. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms. *Water Research* 45: 5925-5933.
- Bott TL, Brack JT, Cushing CE, Gregory SV, King D y Petersen RL. 1978. A comparison of methods for measuring primary productivity and community respiration in streams. *Hydrobiologia* 60: 3-12.
- Bouyoucos GJ. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal* 54: 464-465.
- Bowmer KH, Bales M, Roberts J. 1994. Potential use of irrigation drains as wetlands. *Water Science and Technology* 29: 151-158.
- Butturini A, Sabater F. 1998. Ammonium and phosphate retention in a Mediterranean stream: hydrological vs. temperature control. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55: 1938-1945.
- Butturini A, Sabater F. 1999. Importance of transient storage for ammonium and phosphate retention in a sandy-bottom Mediterranean stream. *Freshwater Biology* 41: 593-603.
- Butturini A, Sabater S, Román A. 2009. La química de las aguas. Los nutrientes. En: Elosegui A y Sabater S (eds.). *Conceptos y técnicas para el estudio de la ecología de ríos*. Fundación BBVA, Bilbao: 97-116.
- Cabrera AL, Zardini E. 1978. *Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires*. 2º edición. Ed. ACME, Buenos Aires. 755 pág.
- Cardinale BJ. 2011. Biodiversity improves water quality through niche partitioning. *Nature* 472: 86-89.

- Carpenter SR, Caraco NF, Correll DL, Howarth RW, Sharpley AN, Smith VH. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications* 8: 559-568.
- Christophoridis C, Fytianos K. 2006. Conditions affecting the release of phosphorus from surface lake sediments. *Journal of Environmental Quality* 35: 1181-1192.
- Cochero J, Gómez N. 2008. Respuestas de la comunidad bacteriana de un Arroyo Pampeano a la adición experimental de nutrientes. V Congreso de Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos, Luján, Buenos Aires.
- Cochero J, Romaní AM, Gómez N. 2013. Delayed response of microbial epipellic biofilm to nutrient addition in a Pampean stream. *Aquatic Microbial Ecology*, 69: 145-155.
- Cohen MJ, Kurz MJ, Heffernan JB, Martin JB, Douglass RL, Foster CR, Thomas RG. 2013. Diel phosphorus variation and the stoichiometry of ecosystem metabolism in a large spring-fed river. *Ecological Monographs* 83: 155-176.
- Cortelezzi A. 2010. Hábitats funcionales y macroinvertebrados en cauces modificados de arroyos de llanura. Impacto sobre la calidad ecológica. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires: 154 pág.
- Covino T, McGlynn B, Baker M. 2010. Separating physical and biological nutrient retention and quantifying uptake kinetics from ambient to saturation in successive mountain stream reaches. *Journal of Geophysical Research* 115, G04010, doi: 10.1029/2009JG001263.
- D'Angelo DJ, Webster JR, Benfield F. 1991. Mechanisms of stream phosphorus retention: an experimental study. *Journal of the North American Benthological Society* 10: 225-237.
- David MB, Gentry LE. 2000. Anthropogenic inputs of nitrogen and phosphorus and riverine export for Illinois, USA. *Journal of Environmental Quality* 29: 494-508.
- Davis JC, Minshall GW. 1999. Nitrogen and phosphorus uptake in two Idaho (USA) headwater wilderness streams. *Oecologia* 119: 247-255.
- Deegan LA, Neill C, Hauptert CL, Ballester MVR, Krusche AV, Victoria RL, Thomas SM, de Moor E. 2011. Amazon deforestation alters small stream structure, nitrogen biogeochemistry and connectivity to larger rivers. *Biogeochemistry* 105: 53-74.

- Dodds WK, Evans-White MA, Gerlanc NM, Gray L, Gudder DA, Kemp MJ, Lopez AL, Mulholland PJ, Stagliano D, Strauss EA, Tank JL, Whiles MR, Wolheim WM. 2000. Quantification of the nitrogen cycle in a prairie stream. *Ecosystems* 3: 574-589.
- Dodds WK, López AJ, Bowden WB, Gregory S, Grimm NB, Hamilton SK, Hershey AE, Martí E, McDowell WH, Meyer JL, Morrall D, Mulholland PJ, Peterson BJ, Tank JL, Valett HM, Webster JR, Wollheim W. 2002. N uptake as a function of concentration in streams. *Journal of the North American Benthological Society* 21: 206-220.
- Dodds WK. 2003. The role of periphyton in phosphorus retention in shallow freshwater aquatic systems. *Journal of Phycology* 39: 840-849.
- Dodds WK. 2007. Trophic state, eutrophication and nutrient criteria in streams. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 669-676.
- Drake WM, Scott JT, Evans White M, Haggard B, Sharpley A, Rogers CW, Grantz EM. 2012. The effect of periphyton stoichiometry and light on biological phosphorus immobilization and release in streams. *Limnology* 13: 97-106.
- Duff JH, Triska FJ. 2000. Nitrogen biogeochemistry and surface-subsurface exchange in streams. En: Jones JB y Mulholland PJ (eds.). *Streams and Groundwaters*. Academic Press, San Diego, California: 197-220.
- Earl SR, Valett HM, Webster JR. 2006. Nitrogen saturation in stream ecosystems. *Ecology*. 87: 3140-3151.
- Edwards AC, Withers PJA. 2007. Linking phosphorus sources to impacts in different types of waterbody. *Soil Use Manage* 23(Suppl.): 133-143.
- Elosegui A, Arana X, Basaguren A, Pozo J. 1995. Self-purification processes along a medium-size stream. *Environmental Management* 19: 931-939.
- Elosegui A, Butturini A y Armengol J. 2009. El caudal circulante. En: Elosegui A y Sabater S (eds.). *Conceptos y técnicas para el estudio de la ecología de ríos*. Fundación BBVA, Bilbao: 51-69.
- Ensign SH, Doyle MW. 2006. Nutrient spiraling in streams and river networks. *Journal of Geophysical Research* 11: 1-13.
- EPA, 2000. Nutrient criteria technical guidance manual. Rivers and streams. EPA-822-B-00-002, Washington DC: 152 pág.

- Feijoó CS, Momo FR, Bonetto CA, Tur NM. 1996. Factors influencing biomass and nutrient content of the submersed macrophyte *Egeria densa* Planch. in a pampasic stream. *Hydrobiologia* 341: 21-26.
- Feijoó C, Giorgi A, García ME, Momo F. 1999. Temporal and spatial variability in streams of pampean basin. *Hydrobiologia* 394: 41-52.
- Feijoó C, García ME, Momo F, Toja J. 2002. Nutrient absorption by the submerged macrophyte *Egeria densa* Planch: Effect of ammonium and phosphorus availability in the water column on growth and nutrient uptake. *Limnética* 21: 93-104.
- Feijoó C, Lombardo RJ. 2007. Baseline water quality and macrophyte assemblages in Pampean streams: a regional approach. *Water Research* 41: 1399-1410.
- Feijoó C, Menéndez M. 2009. La biota de los ríos: los macrófitos. Elosegui A y Sabater S (eds.). *Conceptos y técnicas para el estudio de la ecología de ríos*. Fundación BBVA, Bilbao: 243-251.
- Feijoó C, Giorgi A y Ferreiro N. 2011. Phosphate uptake in a macrophyte-rich Pampean stream. *Limnologica* 41: 285-289.
- Feijoó C, Leggieri L, Ocón C, Muñoz I, Rodrigues Capítulo A, Giorgi A, Colautti D, Ferreiro N, Licursi M, Gómez N, Sabater S. 2014. Stoichiometric homeostasis in the food web of a chronically nutrient-rich stream. *Freshwater Science* 33: 820-831.
- Fellows CS, Valett HM, Dahm CN. 2001. Whole-stream metabolism in two montane streams: Contribution of the hyporheic zone. *Limnology and Oceanography* 46: 523-531.
- Fellows CS, Valett HM, Dahm CN, Thomas SA, Mulholland PJ. 2006. Coupling nutrient uptake and energy flow in headwater streams. *Ecosystems* 9: 788-804.
- Fenn ME, Poth MA, Aber JD, Baron JS, Bormann BT, Johnson DW, Lemly AD, McNulty SG, Ryan DF, Stottlemyer R. 1998. Nitrogen excess in North American ecosystems: Predisposing factors, ecosystem responses, and management strategies. *Ecological Applications* 8: 706-733.
- Ferreiro N, Feijoó C, Giorgi A., Leggieri L. 2011. Effects of macrophyte heterogeneity and food availability on structural parameters of the macroinvertebrate community in a Pampean stream. *Hydrobiologia* 664: 199-211.

- Ferreiro NA. 2012. Influencia de la heterogeneidad ambiental de los lechos de macrófitas en los organismos acompañantes en un arroyo pampeano. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales: 164 pág.
- Fisher SG, Grimm NB, Marti E, Holmes RM, Toner Jr JB. 1998. Material spiraling in stream corridors: a telescoping ecosystem model. *Ecosystems* 1: 19-34.
- Ford WI, Fox JF, Pollock E, Rowe H, Chakraborty S. 2015. Testing assumptions for nitrogen transformation in a low-gradient agricultural stream. *Journal of Hydrology* 527: 908-922.
- Frenghielli J. 1956. Rasgos generales de la hidrografía de la Provincia de Buenos Aires. *Lemit* 2: 1-19.
- Fucks E, Deschamps CM. 2008. Depósitos continentales cuaternarios en el Noreste de la provincia de Buenos Aires. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 63: 326-343.
- Gainswin BE, House WA, Leadbeater BSC, Armitage PD. 2006. Kinetics of phosphorus release from a natural mixed grain size sediment with associated algal biofilms. *Science of the Total Environment* 360: 127-141.
- Gantes HP, Sánchez Caro AS. 2001. Environmental heterogeneity and spatial distribution of macrophytes in plain streams. *Aquatic Botany* 70: 225-236.
- Gardolinski, PC, Hanrahan G, Achterberg EP, Gledhill M, Tappin AD, House WA, Worsfold PJ. 2001. Comparison of sample storage protocols for the determination of nutrients in natural waters. *Water Research* 35: 3670-3678.
- Gibson CA, O'Reilly CM. 2012. Organic matter stoichiometry influences nitrogen and phosphorus uptake in a headwater stream. *Freshwater Science* 31: 395-407.
- Giorgi A. 1998. Factores reguladores del fitobentos de arroyos de llanura. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Luján, Buenos Aires: 173pág.
- Giorgi A, Feijoó C. 1999. Sedimentación de algas en arroyos de llanura. *Actas VII Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales*: 163-172.
- Giorgi A, Feijoó C, Tell G. 2005. Primary producers in a Pampean stream: Temporal variation and structuring role. *Biodiversity and Conservation* 14: 1699-1718.
- Giraut MA, Aguglino RL, Lupano C, Bozzarello E, Cornejo JM, Rey C. 2007. Regiones hídricas superficiales de la provincia de Buenos Aires—Actualización cartográfica digital. Congreso de la Asociación Española de Teledetección. Mar del Plata, Argentina.

- Golterman HL. 1995. The role of the ironhydroxide-phosphate-sulphide system in the phosphate exchange between sediments and overlying water. *Hydrobiologia* 297: 43–54.
- Gómez SE, Toresani NI. 1998. Pampas. En: Canevari P, *et al.* (eds.). *Los humedales de la Argentina*. Wetlands International, Buenos Aires: 97-114.
- Gómez N, Licursi M. 2001. The pampean diatom index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*: 35: 173-181.
- Gómez N, Sierra MV, Cortelezzi A, Capítulo AR. 2008. Effects of discharges from the textile industry on the biotic integrity of benthic assemblages. *Ecotoxicology and Environmental Safety*: 69: 472-479.
- Gómez N, Donato JC, Giorgi A, Guash H, Mateo P, Sabater S. 2009. La biota de los ríos: los microorganismos autótrofos. En: Elozegui A y Sabater S (ed.). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Bilbao, Fundación BBVA: 219-242.
- Gordon ND, McMahon TA, Finlayson BL. 1992. *Stream hydrology*. Wiley and Sons, Chichester. 526 pág.
- Gordon ND, McMahon TA, Finlayson BL, Gippel CJ, Nathan RJ. 2004. *Stream Hydrology: An Introduction for Ecologists* (2da ed.). Wiley and Sons Ltd., West Sussex, England. 429 pág.
- Grimm NB, Fisher SG. 1984. Nitrogen dynamics during succession in a desert stream. *Ecology* 68: 1157-1170.
- Grimshaw HJ, Rosen M, Swift DR, Rodberg K, Noel JM. 1993. Marsh phosphorus concentrations, phosphorus content and species composition of Everglades periphyton communities. *Archiv für Hydrobiologie* 128: 257-276.
- Guasch H, Serra A. 2009. Uso de ríos artificiales en ecología fluvial. En: Elozegui A y Sabater S (eds.). *Conceptos y técnicas para el estudio de la ecología de ríos*. Bilbao, Fundación BBVA: 387-395.
- Gücker B, Boëchat IG. 2004. Stream morphology controls ammonium retention in tropical headwaters. *Ecology* 85: 2818-2827.
- Gücker B, Pusch MT. 2006. Regulation of nutrient uptake in eutrophic lowland streams. *Limnology and Oceanography* 51: 1443-1453.
- Guichón ML, Angelini ME, Benítez A, Serafini MC, Cassini MH. 1999. Caracterización ambiental de la cuenca del río Luján (Argentina) aplicando dos metodologías de

- procesamiento de información satelitaria. *Revista de Teledetección, Asociación Española de Teledetección* 11: 1-7.
- Guzzon A, Bohn A, Diociaiuti M, Albertano P. 2008. Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment. *Water Research* 42: 4357-4367.
- Haggard BE, Stanley EH, Storm DE. 2005. Nutrient retention in a point-source-enriched stream. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 29-47.
- Hall RO, Bernhardt ES, Likens GE. 2002. Relating nutrient uptake with transient storage in forested mountain streams. *Limnology and Oceanography* 47: 255-265.
- Hall RO, Tank JL. 2003. Ecosystem metabolism controls nitrogen uptake in streams in Grand Teton National Park, Wyoming. *Limnology and Oceanography* 48: 1120-1128.
- Hall RO, Tank JL, Sobota DJ, Mulholland PJ, O'Brien JM, Dodds WK, Webster JR, Valett HM, Poole GC, Peterson BJ, Meyer JL, McDowell WH, Johnson SL, Hamilton SK, Grimm NB, Gregory SV, Dahm CN, Cooper LW, Ashkenas LR, Thomas SM, Sheibley RW, Potter JD, Niederlehner BR, Johnson LT, Helton AM, Crenshaw CM, Burgin AJ, Bernot MJ, Beaulieu JJ, Arango CP. 2009. Nitrate removal in stream ecosystems measured by ^{15}N addition experiments: Total uptake. *Limnology and Oceanography* 54: 653-665.
- Hall RO, Baker MA, Rosi-Marshall EJ, Tank JL, Newbold JD. 2013. Solute-specific scaling of inorganic nitrogen and phosphorus uptake in streams. *Biogeosciences* 10: 7323-7331.
- Hanafi S, Grace MR, Hart BT. 2006. Can nutrient spiraling be used to detect seasonal nutrient uptake in a forested stream? *Water, Air, and Soil Pollution* 6: 403-411.
- Hart BT, Freeman P, McKelvie ID. 1992. Whole-stream phosphorus release studies: variation in uptake length with initial phosphorus concentration. *Hydrobiologia* 235/236: 573-584.
- Hecky RE, Kilham P. 1988. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects of enrichment. *Limnology and Oceanography* 33: 796-822.
- Hensley RT, Cohen MJ, Korhnak LV. 2014. Inferring nitrogen removal on large rivers from high-resolution longitudinal profiling. *Limnology and Oceanography* 59: 1152-1170.

- Hill WR, Fanta SE. 2008. Phosphorus and light limit periphyton growth at sub-saturating irradiances. *Freshwater Biology* 53: 215-225.
- Hoellein TJ, Tank JL, Rosi-Marshall EJ, Entekin SA, Lamberti GA. 2007. Controls on spatial and temporal variation of nutrient uptake in three Michigan headwater streams. *Limnology and Oceanography* 52: 1964-1977.
- Holtan H, Kamp-Nielsen L, Stuanes AO. 1988. Phosphorus in soil, water and sediment: an overview. *Hydrobiologia* 170: 19-34.
- Hornberger GM, Kelly MG. 1975. Atmospheric reaeration in a river using productivity analysis. *Journal of the Environmental Engineering Division American Society of Civil Engineers* 101: 729-739.
- House WA, Denison FH. 1998. Phosphorus dynamics in a lowland river. *Water Research* 32: 1819-1830.
- House WA, Jickells TD, Edwards AC, Praska KE, Denison FH. 1998. Reactions of phosphorus with sediments in fresh and marine waters. *Soil Use and Management* 14: 139-146.
- Hudson JJ, Taylor WD, Schindler DW. 2000. Phosphate concentrations in lakes. *Nature* 406: 54-56.
- Jarvie HP, Neal C, Warwick A, White J, Neal M, Wickham HD, Hill LK, Andrews MC. 2002. Phosphorus uptake into algal biofilms in a lowland chalk river. *Science of the Total Environment* 282-283: 353-373.
- Jarvie HP, Jürgens MD, Williams RJ, Neal C, Davies JLL, Barrett C, White J. 2005. Role of river bed sediments as sources and sinks of phosphorus across two major eutrophic UK river basins: the Hampshire Avon and Herefordshire Wye. *Journal of Hydrology* 304: 51-74.
- Jarvie HP, Neal C, Jürgens MD, Sutton EJ, Neal M, Wickham HD, Hill LK, Harman SA, Davies JLL, Warwick A, Barrett C, Griffiths J, Binley A, Swannack N, McIntyre N. 2006. Within-river nutrient processing in chalk streams: The Pang and Lambourn, UK. *Journal of Hydrology* 330: 101-125.
- Jin X, Jiang X, Yao Y, Li L, Wu F. 2006a. Effects of light and oxygen on the uptake and distribution of phosphorus at the sediment-water interface. *Science of the Total Environment* 357: 231-236.

- Jin X, Wang S, Pang Y, Chang Wu F. 2006b. Phosphorus fractions and the effect of pH on the phosphorus release of the sediments from different trophic areas in Taihu Lake, China. *Environmental Pollution* 139: 288-295.
- Jöbgen A, Palm A, Melkonian M. 2004. Phosphorus removal from eutrophic lakes using periphyton on submerged artificial substrata. *Hydrobiologia* 528: 123-142.
- Jones JB, Holmes RM. 1996. Surface-subsurface interactions in stream ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution* 6: 239-242.
- Jorcín A, Nogueira MG. 2005. Temporal and spatial patterns based on sediment and sediment-water interface characteristics along a cascade of reservoirs (Paranapanema River, south-east Brazil). *Lakes and Reservoirs Research Management* 10: 1-12.
- Jordan TE, Correll DL, Weller DE. 1997. Effects of agriculture on discharges of nutrients from coastal plain watersheds of Chesapeake Bay. *Journal of Environmental Quality* 26: 836-848.
- Kaiserli A, Voutsas D, Samara C. 2002. Phosphorus fractionation in lake sediments-Lakes Volvi and Koronia, N. Greece. *Chemosphere* 46: 1147-1155.
- Kemp MJ, Dodds WK. 2002a. The influence of ammonium, nitrate, and dissolved oxygen concentration on uptake, nitrification, and denitrification rates associated with prairie stream substrata. *Limnology and Oceanography* 47: 1380-1393.
- Kemp MJ, Dodds WK. 2002b. Comparisons of nitrification and denitrification in pristine and agriculturally influenced streams. *Ecological Applications* 12: 998-1009.
- Koski-Vähälä J, Hartikainen H. 2001. Assessment of the risk of phosphorus loading due to resuspended sediment. *Journal of Environmental Quality* 30: 960-966.
- Krapovickas S, Di Giacomo A. 1998. Conservation of pampas and campos grasslands in Argentina. *Parks* 8: 53 pág.
- Lamberti GA, Steinman AD. 1993. Research in artificial streams: applications, uses and abuses. *Journal of the North American Benthological Society*. 12: 313-384.
- Leggieri L, Feijó C, Giorgi A, Ferreiro N, Acuña V. 2013. Seasonal weather effects on hydrology drive the metabolism of non-forest lowland streams. *Hydrobiologia* 716: 47-58.

- Leggieri LR. 2014. Influencia de la estequiometría ecológica sobre el metabolismo de arroyos pampeanos. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche: 167 pág.
- Lehto LL, Hill BH. 2013. The effect of catchment urbanization on nutrient uptake and biofilm enzyme activity in Lake Superior (USA) tributary streams. *Hydrobiologia* 713: 35-51.
- Levi PS, Riis T, Alnøe AB, Peipoch M, Maetzke K, Bruus C, Baattrup-Pedersen A. 2015. Macrophyte complexity controls nutrient uptake in lowland streams. *Ecosystems* doi: 10.1007/s10021-015-9872-y.
- Li Z, Tang H, Xiao Y, Zhao H, Li Q, Ji F. 2016. Factors influencing phosphorus adsorption onto sediment in a dynamic environment. *Journal of Hydro-environment Research* 10: 1-11.
- Licursi M. 2005. Efectos de las perturbaciones antropogénicas sobre la taxocenosis de diatomeas bentónicas en sistemas lóticos pampeanos. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires: 186 pág.
- Lijklema L. 1980. Interaction of ortho-phosphate with iron (III) and aluminum hydroxides. *Environmental Science and Technology* 14: 537-541.
- Loez C, Topalián ML. 1999. Use of algae for monitoring rivers in Argentina with special emphasis for the Reconquista river (region of Buenos Aires). En: Prygiel J, Whitton BA, Bukowska J (eds.). *Use of algae for monitoring rivers* 3: 72-83.
- Lu H, Yang L, Shabbir S, Wu Y. 2014a. The adsorption process during inorganic phosphorus removal by cultured periphyton. *Environmental Science and Pollution Research* 21: 8782-8791.
- Lu H, Yang L, Zhang S, Wu Y. 2014b. The behavior of organic phosphorus under non-point source wastewater in the presence of phototrophic periphyton. *PloS One* 9, e85910.
- Lu H, Wan J, Li J, Shao H, Wu, Y. 2016. Periphytic biofilm: A buffer for phosphorus precipitation and release between sediments and water. *Chemosphere* 144: 2058-2064.
- Maccarini GD, Baleani O. (coords.). 1995. Atlas de suelos de la República Argentina. Instituto de suelos, INTA, Aeroterra SA., Fundación ArgenINTA, Buenos Aires.

- Mainstone CP, Parr W. 2002. Phosphorus in rivers-ecology and management. *Science of the Total Environment* 282: 25-47.
- Marcé R, Armengol J. 2009. Modeling nutrient in-stream processes at the watershed scale using nutrient spiralling metrics. *Hydrology and Earth System Sciences* 13: 953-967.
- Margalef, R. 1994. El río planetario. *Tankay* 1: 3-12.
- Martí E, Sabater F. 1996. High variability in temporal and spatial nutrient retention in Mediterranean streams. *Ecology* 77: 854-869.
- Martí E, Grimm NB, Fisher SG. 1997. Pre- and post-flood retention efficiency of nitrogen in a Sonoran Desert stream. *Journal of the North American Benthological Society* 16: 805-819.
- Martí E, Aumatell J, Godé L, Poch M, Sabater F. 2004. Nutrient retention efficiency in streams receiving inputs from wastewater treatment plants. *Journal of Environmental Quality* 33: 285-293.
- Martí E, Sabater S. 2009. Retención de nutrientes en ecosistemas fluviales. En: Elosegui A y Sabater S (eds.). *Conceptos y técnicas para el estudio de la ecología de ríos*. Fundación BBVA, Bilbao: 117-132.
- Matteucci SD, Falcón M. 2011. Efectos de la urbanización sobre la biodiversidad. En: Athor J (ed.). *Los paisajes perdidos de Buenos Aires*. En prensa.
- Matteucci SD. 2012. Ecorregión Pampa. En Morello J, Matteucci S y Rodríguez A (eds.). *Ecorregiones y Complejos Ecosistémicos Argentinos*. Orientación Gráfica Editora (1° ed.). Buenos Aires: 391-445.
- McColl RHS. 1974. Self-purification of small freshwater streams: phosphate, nitrate, and ammonia removal. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 8: 375-388.
- McCormick PV, Shuford RBE, Chimney MJ. 2006. Periphyton as a potential phosphorus sink in the Everglades Nutrient Removal Project. *Ecological Engineering* 27: 279-289.
- McDowell RW, Sharpley AN, Folmar G. 2001. Phosphorus export from an agricultural watershed: linking source and transport mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 30: 1587-1595.

- Merseburger G, Martí E, Sabater F, Ortiz JD. 2011. Point-source effects on N and P uptake in a forested and an agricultural Mediterranean streams. *Science of the Total Environment* 409: 957-967.
- Meyer JL. 1979. The role of sediments and bryophytes in phosphorus dynamics in a headwater stream ecosystem. *Limnology and Oceanography* 24: 365-375.
- Meyer JL, Likens GE. 1979. Transport and transformation of phosphorus in a stream ecosystem. *Ecology* 60: 1255-1269.
- Morello J, Matteucci SD. 1997. El modelo agrícola del Núcleo Maicero como sistema complejo. En: Morello J y Solbrig OT (comps.). *La pampa Ondulada: granero del mundo hasta cuándo?* Orientación Gráfica Editora, SRL, Buenos Aires: 201-231.
- Morrás H. 1993. Fósforo total y materiales parentales de la región central de la República Argentina. Instituto de Suelos, INTA, Buenos Aires. 10 pág.
- Mugni H, Jergentz S, Schulz R, Maine A, Bonetto C. 2005. Phosphate and nitrogen compounds in streams of Pampean Plain areas under intensive cultivation (Buenos Aires, Argentina). En: Serrano L, Golterman HL (eds.). *Phosphates in Sediments*. Backhuys Publishers, The Netherlands: 163-170.
- Mulholland PJ, Newbold JD, Elwood JW, Ferren LA, Webster JR. 1985. Phosphorus spiralling in a woodland stream: seasonal variations. *Ecology* 66: 1012-1023.
- Mulholland PJ, Rosemond AD. 1992. Periphyton response to longitudinal nutrient depletion in a woodland stream: Evidence of upstream-downstream linkage. *Journal of the North American Benthological Society* 11: 405-419.
- Mulholland PJ, Marzolf ER, Webster JR, Hart DR, Hendricks SP. 1997. Evidence that hyporheic zones increase heterotrophic metabolism and phosphorus uptake in forest streams. *Limnology and Oceanography* 42: 443-451.
- Mulholland PJ, Tank JL, Sanzone DM, Wolheim WM, Peterson BG, Webster JR, Meyer JL. 2000. Nitrogen cycling in a forest stream determined by a ¹⁵N tracer addition. *Ecological Monographs* 70: 471-493.
- Mulholland PJ, Tank JL, Webster JR, Bowden WB, Dodds WK, Gregory SV, Grimm NB, Hamilton SK, Johnson SL, Martí E, McDowell WH, Merriam JL, Meyer JL, Peterson BJ, Valett HM, Wolheim WM. 2002. Can uptake length in streams be determined by

- nutrient addition experiments? Results from an interbiome comparison study. *Journal of the North American Benthological Society* 21: 544-560.
- Mulholland PJ, Thomas SA, Valett HM, Webster JR, Beaulieu JJ. 2006. Effects of light on NO_3^- uptake in small forested streams: diurnal and day-to-day variations. *Journal of the North American Benthological Society* 25: 583-595.
- Mulholland PJ, Helton AM, Poole GC, Hall RO, Hamilton SK, Peterson BJ, Tank JL, Ashkenas LR, Cooper LW, Dahm CN, Dodds WK, Findlay S, Gregory SV, Grimm NB, Johnson SL, McDowell WH, Meyer JL, Valett HM, Webster JR, Arango C, Beaulieu JJ, Bernot MJ, Burgin AJ, Crenshaw C, Johnson L, Niederlehner BR, O'Brien JM, Potter JD, Sheibley RW, Sobota DJ, Thomas SM. 2008a. Excess nitrate from agricultural and urban areas reduces denitrification efficiency in streams. *Nature* 452: 202-205.
- Mulholland PJ, Helton AM, Poole GC, Hall RO, Hamilton SK, Peterson BJ, Tank JL, Ashkenas RL, Cooper LW, Dahm CN, Dodds WK, Findlay SEG, Gregory SV, Grimm NV, Johnson SL, McDowell WH, Meyer JL, Valett M, Webster JR, Arango CP, Beaulieu JJ, Bernot MJ, Burgin AJ, Crenshaw CL, Johnson LT, Niederlehner BR, O'Brien JM, Potter JD, Sheibley RW, Sobota DJ, Thomas SM. 2008b. Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. *Nature* 452: 202-205.
- Mulholland PJ, Webster JR. 2010. Nutrient dynamics in streams and the role of J-ABS. *Journal of the North American Benthological Society* 29: 100-117.
- Munn NL, Meyer JL. 1990. Habitat-specific solute retention in two small streams: an intersite comparison. *Ecology* 71: 2069-2082.
- Neal C. 2002a. Interception and attenuation of atmospheric pollution in a lowland ash forested site, Old Pond Close, Northamptonshire, UK. *Science of the Total Environment* 282-283: 99-119.
- Neal C. 2002b. Calcite saturation in eastern UK rivers. *Science of the Total Environment* 282-283: 311-326.
- Newbold JN, Elwood JW, O'Neill RV, Van Winkle W. 1981. Measuring nutrient spiralling in streams. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 38: 860-863.
- Newbold JD, Elwood JW, O'Neill RV, Sheldon AL. 1983. Phosphorus dynamics in a woodland stream ecosystem: a study of nutrient spiralling. *Ecology* 64: 1249-1265.

- Newbold JD. 1992. Cycles and spirals of nutrients. En: Calow P, y Petts GE (eds.) The rivers handbook. Oxford, Blackwell, Vol. 1: 379-408.
- Nguyen L, Sukias J. 2002. Phosphorus fractions and retention in drainage ditch sediments receiving surface runoff and subsurface drainage from agricultural catchments in the North Island, New Zealand. *Agriculture Ecosystems and Environment* 92: 49-69.
- Niyogi DK, Simon KS, Townsend CR. 2004. Land use and stream ecosystem functioning: nutrient uptake in streams that contrast in agricultural development. *Archiv für Hydrobiologie* 4: 471-486.
- O'Brien JM, Dodds WK, Wilson KC, Murdock JN, Eichmiller J. 2007. The saturation of N cycling in Central Plains streams: ¹⁵N experiments across a broad gradient of nitrate concentrations. *Biogeochemistry* 84: 31-49.
- O'Brien JM, Dodds WK. 2008. Ammonium uptake and mineralization in prairie streams: chamber incubation and short-term nutrient addition experiments. *Freshwater Biology* 53: 102-112.
- O'Brien JM, Dodds WK. 2010. Saturation of NO₃⁻ uptake in prairie streams as a function of acute and chronic N exposure. *Journal of the North American Benthological Society* 29: 627-635.
- O'Brien JM, Lessard JL, Plew D, Graham SE, McIntosh AR. 2014. Aquatic macrophytes alter metabolism and nutrient cycling in lowland streams. *Ecosystems* 17: 405-417.
- O'Farrell I, Bordet F, Chaparro G. 2012. Bloom forming cyanobacterial complexes cooccurring in a subtropical large reservoir: validation of dominant eco-strategies. *Hydrobiologia* 698: 175-190.
- O'Farrell I, Lombardo RJ, de Tezanos Pinto P, Loez C. 2002. The assessment of water quality in the lower Luján River (Buenos Aires, Argentina): phytoplankton and algal bioassays. *Environmental Pollution* 120: 207-218.
- Odum HT. 1956. Primary production in flowing waters. *Limnology and Oceanography* 1: 102-117.
- Oviedo-Vargas D, Royer TV, Johnson LT. 2013. Dissolved organic carbon manipulation reveals coupled cycling of carbon, nitrogen, and phosphorus in a nitrogen-rich stream. *Limnology and Oceanography* 58: 1196-1206.

- Paerl H, Pinckney J. 1996. A mini-review of microbial consortia: their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. *Microbial Ecology* 31: 225-247.
- Palmeri F. 2002. Manual de Técnicas de Ingeniería Naturalística en Ámbito Fluvial. Administración de la Comunidad Autónoma del País Vasco, Departamento de Transporte y Obras Públicas.
- Papadakis J, 1980. El suelo (con especial referencia a los suelos de América Latina). Albatros, Buenos Aires. 346 pág.
- Peipoch M, Gacia E, Pastor A, Ribot M, Riera JL, Sabater F, Martí E. 2014. Intrinsic and extrinsic drivers of autotrophic nitrogen cycling in stream ecosystems: Results from a translocation experiment. *Limnology and Oceanography* 59: 1973-1986.
- Pereyra FX. 2004. Geología urbana del área metropolitana bonaerense y su influencia en la problemática ambiental. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 59: 394-410.
- Perkins RG, Underwood GJC. 2001. The potential for phosphorus release across the sediment-water interface in an eutrophic reservoir dosed with ferric sulphate. *Water Research* 35: 1399-1406.
- Peterson BJ, Wollheim WM, Mulholland PJ, Webster JR, Meyer JL, Tank JL, Marti E, Bowden WB, Valett HM, Hershey AE, McDowell WH, Dodds WK, Hamilton SK, Gregory S, Morrall DD. 2001. Control of nitrogen export from watersheds by headwater streams. *Science* 292: 86-90.
- Peruzzo PJ, Porta AA, Ronco AE. 2008. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution*, 156: 61-66.
- Pietro KC, Chimney MJ, Steinman AD. 2006. Phosphorus removal by the *Ceratophyllum*/periphyton complex in a south Florida (USA) freshwater marsh. *Ecological Engineering* 27: 290-300.
- Pizarro JB. 1997. Cambios en el uso de la tierra y en la organización social de la producción. Sus consecuencias socio-económicas y ambientales. En: Morello J y Solbrig OT (comps.) *¿Argentina granero del mundo. Hasta cuándo?* Orientación Gráfica Editora, SRL, Buenos Aires: 113-136.
- Prieto AR. 1996. Late Quaternary vegetational and climatic changes in the Pampa grassland of Argentina. *Quaternary Research* 45: 73-88.

- Ranieri MC. 2015. Escalas de variación de la diversidad de macrófitas en arroyos de la provincia de Buenos Aires. Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales: 185 pág.
- Rasmussen JJ, Baatrup-Pedersen A, Riis T, Friberg N. 2011. Stream ecosystem properties and processes along a temperature gradient. *Aquatic Ecology* 45: 231-242.
- Real R, Barbosa A, Porrás D, Kin M, Márquez A, Guerrero J, Palomo L, Justo E, Vargas J. 2003. Relative importance of environment, human activity and spatial situation in determining the distribution of terrestrial mammal diversity in Argentina. *Journal of Biogeography* 30: 939-947.
- Reddy KR, Kadlec RH, Flaig E, Gale PM. 1999. Phosphorus retention in streams and wetlands: a review. *Critical reviews in environmental science and technology* 29: 83-146.
- Rejmánková E, Komárková J. 2000. A function of cyanobacterial mats in phosphorus-limited tropical wetlands. *Hydrobiologia* 431: 135-153.
- Ribot M, Martí E, von Schiller D, Sabater F, Daims H, Battin TJ. 2012. Nitrogen processing and the role of epilithic biofilms downstream of a wastewater treatment plant. *Freshwater Biology* 31: 1057-1069.
- Ribot M, von Schiller D, Peipoch M, Sabater F, Grimm NB, Martí E. 2013. Influence of nitrate and ammonium availability on uptake kinetics of stream biofilms. *Freshwater Science* 32: 1155-1167.
- Richey JS, McDowell WH, Likens GE. 1985. Nitrogen transformations in a small mountain stream. *Hydrobiologia* 124: 129-139.
- Riis T, Dodds WK, Kristensen PB, Baisner AJ. 2012. Nitrogen cycling and dynamics in a macrophyte-rich stream as determined by a $^{15}\text{N-NH}_4^+$ release. *Freshwater Biology* 57: 1579-1591.
- Ringuelet R. 1962. *Ecología acuática continental*. EUDEBA. Buenos Aires, 138 pág.
- Roberts BJ, Mulholland PJ. 2007. In-stream biotic control on nutrient biogeochemistry in a forested stream, West Fork of Walker Branch. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* (2005-2012): 112 (G4).

- Rodrigues Capítulo A, Gómez N, Giorgi A, Feijoó C. 2010. Global changes in pampean lowland streams (Argentina): implications for biodiversity and functioning. *Hydrobiologia*. 657: 53-70.
- Rodríguez Castro C. 2015. Capacidad de depuración de sustancias bioaprovechables en arroyos de llanura y su relación con el arsénico. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires: 245 pág.
- Rogers CW, Sharpey AN, Haggard BE, Scott JT. 2013. Phosphorus uptake and release from submerged sediments in a simulated stream channel inundated with a poultry litter source. *Water Air Soil Pollution* 224: 1-9.
- Ruggiero A, Solimini AG, Anello M, Romano A, De Cicco M, Carchini G. 2006. Nitrogen and phosphorus retention in a human altered stream. *Chemistry and Ecology*, 22 (suplement1): S1-S13.
- Runkel, RL. 1998. One-dimensional transport with inflow and storage (OTIS): A solute transport model for streams and rivers. US Geological Survey, Water-Resources Investigations Report 98-4018: 73 pág.
- Runkel RL. 2007. Toward a transport-based analysis of nutrient spiraling and uptake in streams. *Limnology and Oceanography: Methods* 5: 50-62.
- Sabater F, Butturini A, Martí E, Muñoz I, Romaní A, Wray J, Sabater S. 2000. Effects of riparian vegetation removal on nutrient retention in a Mediterranean stream. *Journal of the North American Benthological Society* 19: 609-620.
- Saikia S, Nandi S, Majumder S. 2013. A review on the role of nutrients in development and organization of periphyton. *Journal of Biological Research* 3: 780-788.
- Sala J, Auge M. 1970. Algunas características geohidrológicas del noreste de la provincia de Buenos Aires. *Cuartas Jornadas Geológicas Argentinas*. Tomo 3: 321-336.
- Sala JM. 1972 Contribución al conocimiento geohidrológico de la porción oriental de la cuenca del río Luján y las correspondientes a los arroyos Escobar, Garin, Claro y de Las Tunas. Consejo Federal de Inversiones, EASNE, Buenos Aires: 1-49.
- Sala JM, Gonzalez N, Kruse E. 1983. Generalización hidrológica de la provincia de Buenos Aires. *Coloquio Internacional sobre Hidrología de Grandes Llanuras*: 976-1009.

- Salehin M, Packman AI, Wörman A. 2003. Comparison of transient storage in vegetated and unvegetated reaches of a small agricultural stream in Sweden: Seasonal variation and anthropogenic manipulation. *Advances in Water Resources* 26: 951-964.
- Schindler DW. 1977. The evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* 195: 260-262.
- Schlesinger, W. H. 1997. *Biogeochemistry: An Analysis of Global Change*. Academic Press, San Diego, California. 588 pág.
- Schulz M, Herzog C. 2004. The influence of sorption processes on the phosphorus mass balance in a eutrophic German lowland river. *Water Air Soil Pollution* 155: 291-301.
- Scinto LJ, Reddy KR. 2003. Biotic and abiotic uptake of phosphorus by periphyton in a subtropical freshwater wetland. *Aquatic Botany* 77: 203-222.
- Sculthorpe CD. 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. St. Martin's Press, New York. 610 pág.
- Sebetich MJ, Kennedy VC, Zand SM, Avanzino RJ, Zellweger GW. 1984. Dynamics of added nitrate and phosphate compared in a northern California woodland stream. *Water Resour Bull* 20: 93-102.
- Shigaki F, Kleinman PJA, Schmidt JP, Sharpley AN, Allen AL. 2008. Impact of dredging on phosphorus transport in agricultural drainage ditches of the Atlantic coastal plain. *Journal of the American Water Resources Association* 44: 1500-1511.
- Sierra MV, Gómez N. 2007. Structural characteristics and oxygen consumption of the epipellic biofilms in three lowland streams exposed to different land uses. *Water Air and Soil Pollution* 186: 115-127.
- Sierra MV. 2009. *Microbentos de sistemas lóticos pampeanos y su relación con la calidad del agua. Respuestas funcionales y estructurales*. Tesis doctoral. UNLPFCNyM.
- Sierra MV, Gómez N. 2010. Assessing the disturbance caused by an industrial discharge using field transfer of epipellic biofilm. *Science of the Total Environment* 408: 2696-2705.
- Simon KS, Niyogi DK, Frew RD, Townsend CR. 2007. Nitrogen dynamics in grassland streams along a gradient of agricultural development. *Limnology and Oceanography* 52: 1246-1257.

- Simon KS, Townsend CR, Biggs BJE, Bowden WB. 2005. Temporal variation of N and P uptake in 2 New Zealand streams. *Journal of the North American Benthological Society* 24: 1-18.
- Soriano AR, León JC, Sala OE, Lavado RS, Deregibus VA, Cahuépé MA, Scaglia OA, Velazquez CA, Lemcoff JH. 1992. Río de la Plata grasslands. En: Coupland RT (ed.). *Ecosystems of the World. Natural Grasslands: Introduction and Western Hemisphere*. Elsevier, New York: 367-407.
- Stanley EH, Ward AK. 1997. Inorganic nitrogen regimes in an Alabama wetland. *Journal of the North American Benthological Society* 16: 820-832.
- Steinman AD, Mulholland PJ. 2007. Phosphorus limitation, uptake, and turnover in benthic stream algae. En: Hauer FR y Lamberti GA (eds.). *Methods in stream ecology*. Academic Press, San Diego, California, USA: 187-212.
- Stream Solute Workshop. 1990. Concepts and methods for assessing solute dynamics in stream ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society* 9: 95-119.
- Strickland LD, Parsons FR. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 167: 310 pág.
- Szpeiner A, Martínez-Ghersa MA, Ghersa C. 2007. Agricultura pampeana, corredores biológicos y biodiversidad. *Ciencia hoy* 17: 38-46.
- Tank JL, Meyer JL, Sanzone DM, Mulholland PJ, Webster JR, Peterson BJ, Wolheim WM, Leonard NE. 2000. Analysis of nitrogen cycling in a forest stream during autumn using a ¹⁵N-tracer addition. *Limnology and Oceanography* 45: 1013-1029.
- Tank JL, Bernot MJ, Rosi-Marshall EJ. 2007. Nitrogen limitation and uptake. En: Hauer FR y Lamberti GA (Eds.). *Methods in stream ecology*. Academic Press, San Diego, California, USA: 213-238.
- Tank JL, Rosi-Marshall EJ, Baker MA, Hall RO. 2008. Are rivers just big streams? A pulse method to quantify nitrogen demand in a large river. *Ecology* 89: 2935-2945.
- Thyssen N, Erlandsen M, Jeppesen E, Ursin C. 1987. Reaeration of oxygen in shallow, macrophyte rich streams. Determination of the reaeration rate coefficient. *Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie* 72: 405-429.

- Triska FJ, Kennedy VC, Avanzino RJ, Zellweger GW, Bencala KE. 1989. Retention and transport of nutrients in a third-order stream in northwestern California: hyporheic processes. *Ecology* 70: 1893-1905.
- Triska FJ, Jackman AP, Duff JH, Avanzino RJ. 1994. Ammonium sorption to channel and riparian sediments: a transient storage pool for dissolved inorganic nitrogen. *Biogeochemistry* 26: 67-83.
- Uehlinger U. 1986. Bacteria and phosphorus regeneration in lakes. An experimental study. *Hydrobiologia* 135: 197-206.
- Uehlinger U, Naegeli WM. 1998. Ecosystem metabolism, disturbance, and stability in a prealpine gravel bed river. *Journal of the North American Benthological Society* 17: 165-178.
- Valett HM, Morrice JA, Dahm CN, Campana ME. 1996. Parent lithology, surface-groundwater exchange, and nitrate retention in headwater streams. *Limnology and Oceanography* 41: 333-345.
- Valett HM, Thomas SA, Mulholland PJ, Webster JR, Dahm CN, Fellows CS, Crenshaw CL, Peterson CG. 2008. Endogenous and exogenous control of ecosystem function: N cycling in headwater streams. *Ecology* 89: 3515-3527.
- Velasco J, Millard A, Vidal-Abarca MR, Suárez ML, Guerrero C, Ortega M. 2003. Macrophytic, epipelic and epilithic primary production in a semiarid Mediterranean stream. *Freshwater Biology* 48: 1408-1420.
- Viglizzo EF, Lértora F, Pordomingo AJ, Bernardos JN, Roberto ZE y del Valle H. 2001. Ecological lessons and application from one century of low external-input farming in the pampas of Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 83: 65-81.
- Viglizzo EF, Pordomingo AJ, Castro MG, Lértora FA. 2003. Environmental assessment of agriculture at a regional scale in the pampas of Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* 87: 169-195.
- Viglizzo EF, Frank FC, Carreño LV. 2006. Situación ambiental en las ecorregiones Pampa y Campos y Malezales. En: Brown A, Martínez Ortiz U, Acerbi M y Corcuera J (eds.). *La Situación Ambiental Argentina 2005*. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires: 261-278.

- Viglizzo EF, Jobbágy E. (eds.). 2006. Expansión de la Frontera Agropecuaria en Argentina y su Impacto Ecológico-Ambiental. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 104 pág.
- Vilches C. 2005. Comparación del metabolismo en productores del arroyo Las Flores. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Luján: 83 pág.
- Vilches C, Giorgi A. 2010. Metabolism in a macrophyte-rich stream exposed to flooding. *Hydrobiologia* 654: 57-65.
- Vilches C. 2012. Efectos de la contaminación difusa sobre el perifiton de arroyos. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires: 188 pág.
- Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman DG. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7: 737-750.
- von Schiller D, Martí E, Riera JL, Ribot M, Marks JC, Sabater F. 2008. Influence of land use on stream ecosystem function in a Mediterranean catchment. *Freshwater Biology* 53: 2600-2612.
- Walling DE, Collins AL, Stroud R. 2008. Tracing suspended sediments and particulate phosphorus sources in catchments. *Journal of Hydrology* 350: 274-289.
- Wang H, Holden J, Spera K, Xu X, Wang Z, Luan J, Xu X, Zhang Z. 2013. Phosphorus fluxes at the sediment-water interface in subtropical wetlands subjected to experimental warming: a microcosm study. *Chemosphere* 90: 1794-1804.
- Webster JR, Patten BC. 1979. Effects of watershed perturbation on stream potassium and calcium dynamics. *Ecological Monographs* 49: 51-72.
- Webster JR, Tank JL, Wallace JB, Meyer JL, Eggert SL, Ehrman TP, Ward BR, Bennett BL, Wagner PE, McTammany ME. 2000. Effects of litter exclusion and wood removal on phosphorus and nitrogen retention in a forest stream. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie* 27: 1337-1340.
- Webster JR, Mulholland PJ, Tank JL, Valett HM, Dodds WK, Peterson BJ, Bowden WB, Dahm CN, Findlay S, Gregory SV, Grimm NB, Hamilton SK, Johnson SL, Martí E, McDowel WH, Meyer JL, Morrall DD, Thomas SA, Wollheim WM. 2003. Factors

- affecting ammonium uptake in streams - an inter-biome perspective. *Freshwater Biology* 48: 1329-1352.
- Webster JR, Valett HM. 2006. Solute dynamics. En: Hauer FR, Lamberti GA (eds.). *Methods in stream ecology*. Academic Press, San Diego: 169-185.
- Wenger SJ, Roy AH, Jackson CR, Bernhardt ES, Carter TL, Filoso S, Gibson CA, Cully Hession W, Kaushal SS, Martí E, Meyer JL, Palmer MA, Paul MJ, Purcell AH, Ramírez A, Rosemond AD, Schofield KA, Sudduth EB, Walsh CJ. 2009. Twenty-six key research questions in urban stream ecology: an assessment of the state of the science. *Journal of the North American Benthological Society* 28:1080-1098.
- Wetzel RG. 1981. *Limnología*. Omega, Barcelona. 679 pág.
- Wetzel RG. ed. 1983. *Periphyton of Aquatic Ecosystems*. BV Junk Publishers, The Hague. 346 pág.
- Wetzel RG, Likens GE. 1991. *Limnological analysis*. Springer-Verlag, New York. 391 pág.
- Wetzel RG. 2001. *Limnology: Lake and River Ecosystems*. Academic Press, London, UK. 1006 pág.
- Whitton BA, Yelloly JM, Christmas M, Hernandez I. 1998. Surface phosphatase activity of benthic algae in a stream with highly variable ambient phosphate concentrations. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie* 26: 967-972.
- Wilcock RJ, Scarsbrook MR, Cooke JG, Clostey KJ y Nagels JW. 2004. Shade and flow effects on ammonia retention in macrophyte-rich streams: implications on water quality. *Environmental Pollution* 132: 95-100.
- Wilcock RJ, Scarsbrook MR, Costle KJ y Nagels JW. 2002. Controlled release experiments to determine the effects of shade and plants on nutrient retention in a lowland stream. *Hidrobiologia* 485: 153-162.
- Wiley MJ, Osborne LL, Larimore RW. 1990. Longitudinal structure of an agricultural prairie system and its relationship to current stream ecosystem theory. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47: 373-384.
- Withers PJA, Jarvie HP. 2008. Delivery and cycling of phosphorus in rivers: A review. *Science of the total environment* 400: 379-395.

- Wollheim WM, Peterson BJ, Deegan LA, Hobbie JE, Hooker B, Bowden WB, Edwardson KJ, Arscott DB, Hershey AE, Finlay J. 2001. Influence of stream size on ammonium and suspended particulate nitrogen processing. *Limnology and Oceanography* 46: 1-13.
- Woodruff S, House W, Callow M, Leadbetter B. 1999. The effects of biofilms on chemical processes in surficial sediments. *Freshwater Biology* 41: 73-89.
- Writer JH, Ryan JN, Barber LB. 2011. Role of biofilms in sorptive removal of steroidal hormones and 4-Nonylphenol compounds from streams. *Environmental Science and Technology* 45: 7275-7283.
- Wu Y, Zhang S, Zhao H, Yang L. 2010. Environmentally benign periphyton bioreactors for controlling cyanobacterial growth. *Bioresource Technology* 101: 9681-9687.
- Zárate M, Kemp RA, Espinosa M, Ferrero L. 2000. Pedosedimentary and palaeo-environmental significance of a Holocene alluvial sequence in the southern Pampas, Argentina. *The Holocene* 10: 481-488.
- Zhang JZ, Huang XL. 2007. Relative importance of solid-phase phosphorus and iron on the sorption behavior of sediments. *Environmental Science and Technology* 41: 2789-2795.
- Zhang X, Liu Z, Gulati R, Jeppesen E. 2013. The effect of benthic algae on phosphorus exchange between sediment and overlying water in shallow lakes: a microcosm study using ^{32}P as a tracer. *Hydrobiologia* 710: 109-116.
- Zuur A, Ieno, EN, Walker, N, Saveliev, AA, Smith, GM. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer Science and Business Media. 574 pág.

Anexo

Anexo cap. 4. Parámetros hidráulicos obtenidos a partir del modelado con OTIS en el arroyo De la Cruz (DLC) y en el arroyo Las Flores (LF): (α) coeficiente de intercambio del agua desde el canal principal a la zona de retención transitoria (ZRT), (α_2) coeficiente de intercambio del agua desde la ZRT al canal principal, tiempo de residencia en el cauce principal (T_w) y en la ZRT (T_s), longitud de captación hidráulica (Sh), factor de retención hidráulica (Rh), fracción del tiempo de viaje promedio atribuible a la retención transitoria (F_{med}), y número de Dahmkohler (DaI).

	D (m ² /s)	$\alpha \times 10^{-3}$ (1/s)	$\alpha_2 \times 10^{-3}$ (1/s)	T_w (s)	T_s (s)	Sh (m)	Rh (s/m)	Fmed	DaI
DLC									
P temprana	0,092	8,0	28,3	125	35,4	35,2	1,0	0,17	7,1
P tardía	0,073	4,0	10,5	250	95,2	44,9	2,1	0,19	4,2
Verano	0,043	4,0	6,8	250	147	27,9	5,3	0,31	5,0
Otoño	0,073	4,0	13,3	250	75,2	55,4	1,4	0,14	4,0
Invierno	0,045	6,2	19,4	161	51,5	37,9	1,4	0,18	5,9
Media	0,065	5,2	15,7	207	80,9	40,3	2,2	0,20	5,2
DS	0,021	1,8	8,4	60	43,5	10,4	1,7	0,07	1,3
LF									
P temprana	0,020	3,2	5,8	313	172,4	20,0	8,5	0,27	4,0
P tardía	0,181	1,5	4,0	667	249,3	105,2	2,4	0,07	1,1
Verano	0,018	4,2	7,8	238	128,2	12,6	10,2	0,32	7,1
Otoño	0,003	2,5	3,6	400	279,0	7,0	39,9	0,39	7,3
Invierno	0,019	4,2	8,0	238	124,3	14,2	8,7	0,30	5,9
Media	0,048	3,1	5,8	371	190,6	31,8	14,0	0,27	5,1
DS	0,075	1,2	2,1	178	70,5	41,3	14,8	0,12	2,6

Glosario

Absorción: incorporación de sustancias externas. Sinónimos: captación, asimilación.

Advección: desplazamiento horizontal de una masa de agua.

Adsorción: proceso de atracción y retención de las moléculas o iones de una sustancia en la superficie de otra.

Alóctono: dicese del material de origen externo al sistema fluvial.

Autóctono: dicese del material de origen propio del sistema fluvial.

Autótrofo: dicese del organismo que basa su funcionamiento en la síntesis del carbono orgánico a partir de carbono inorgánico y energía externa, generalmente lumínica.

Biofilm: película orgánica formada por microorganismos de distintos tipos que se desarrolla sobre superficies sólidas en contacto con el agua.

Biogeoquímico: corresponde al conjunto de procesos que afectan a los elementos químicos que forman parte de los seres vivos, y que discurren o se acumulan en la biosfera. Se refiere a los ciclos de elementos tales como el fósforo, nitrógeno y carbono.

Carga de nutrientes: cantidad de nutrientes transportados por un volumen de agua.

Cauce: parte del sistema fluvial por donde discurren las aguas.

Coefficiente de reaeración: tasa que mide el grado en el que el agua intercambia gases con la atmósfera y que depende, principalmente, de la turbulencia.

Conductímetro: aparato que permite medir la conductividad eléctrica del agua.

Corer: cilindro o tubo utilizado para recoger muestras de sedimento.

Denitrificación: reducción de los nitritos y nitratos a N_2 (nitrógeno molecular).

Desorción: proceso inverso al de adsorción.

Detrito: en general, materia orgánica muerta; a veces se utiliza para referirse a la materia orgánica parcialmente descompuesta y cuyo origen es difícil de precisar.

Distancia de asimilación o de captación (S_w): es la distancia que recorre, en promedio, un nutriente en su forma disuelta a lo largo del río hasta que es asimilado por la biota.

Distancia de retorno (S_b): es la distancia que recorre un nutriente, en promedio, en el compartimento biótico antes de ser liberado nuevamente como nutriente inorgánico.

Eficiencia de retención: [véase *velocidad de asimilación*]

Enzima extracelular: enzima que actúa fuera de la célula, ya sea por estar ligada a la célula (ectocelular) o por estar libre en el medio.

Epifítico: dicese del que se encuentra y desarrolla sobre organismos vegetales vivos.

Epifiton: conjunto de microorganismos que crecen adheridos o que se desarrolla sobre las superficies de las macrófitas.

Epipélico: dicese del que se encuentra y desarrolla sobre sedimentos (finos, orgánicos).

Epipelon: conjunto de microorganismos que crecen adheridos o que se desarrolla sobre sedimentos (finos, orgánicos).

Escorrentía: lámina de agua que circula por la cuenca, resultado de la diferencia entre la precipitación y la infiltración y la evapotranspiración.

Espiral de nutrientes: expresión que resume la dinámica de nutrientes en ríos y arroyos como resultado de su retención y transporte longitudinal. Este concepto hace referencia a que el ciclo de nutrientes, en un sistema fluvial, no ocurre en un mismo tramo, sino que se cierra aguas abajo. A medida que los solutos circulan entre los componentes bióticos y abióticos del arroyo, están sujetos al transporte río abajo y, por lo tanto, el ciclo se asemeja a una espiral.

Floculación: agregación de partículas sólidas en una dispersión coloidal.

Fluvial: de los ríos o relativo a ellos.

Heterótrofo: organismo incapaz de elaborar su propia materia orgánica a partir de materia inorgánica, por lo que debe nutrirse de otros seres vivos.

Hiporreico: compartimento inferior al superficial en el cauce fluvial e íntimamente conectado a éste, con dinámica hidrológica, biogeoquímica y biota características.

Irradiancia: intensidad de luz visible.

Léntico: dicese de sistema lacustre o de aguas estancadas.

Lixiviación: proceso de disolución de materiales solubles orgánicos.

Longitud de captación: [véase *distancia de asimilación*]

Lótico: referido a ríos y arroyos, aguas que fluyen.

Macrófitas: término comúnmente utilizado para referirse a las formas macroscópicas de vegetación acuática, incluidas las algas filamentosas, las pocas especies de musgos y helechos adaptados al hábitat acuático como así también las verdaderas angiospermas.

Metabolismo: en un ecosistema fluvial, se refiere a los procesos de producción y respiración que ocurren en él.

Metafiton: grupo de algas y cianobacterias libremente agregadas que no están estrictamente adheridas al sustrato ni verdaderamente suspendidas y se encuentran en las zonas litorales de los lagos o en las zonas someras de los ríos debido al movimiento del agua. Normalmente, se originan a partir de la fragmentación de comunidades epifíticas que se agrupan formando matas muy densas que, a su vez, pueden formar acumulaciones microbiales con un intenso reciclado de nutrientes interno.

Nitrificación: oxidación del amonio a nitritos y posteriormente a nitratos catalizada por bacterias.

Orden de un río: sistema de clasificación de las entidades de un tramo fluvial en función de la red de drenaje situada aguas arriba.

Perifiton: término que se aplica al conjunto de microorganismos que crecen adheridos o que se desarrolla sobre sustratos vivos o muertos de diferente naturaleza (ya sea la superficie de plantas, animales u objetos inanimados sumergidos) y suele estar compuesto por microalgas, bacterias, hongos y protozoos.

Poza: área del cauce amplia y profunda, en la que el río disminuye su velocidad y en la que se favorece la sedimentación de materiales.

Prístino: dicese del ecosistema libre de cualquier perturbación originada por la actividad humana.

Producción primaria: proceso mediante el cual los organismos sintetizan materia orgánica a partir de carbono inorgánico. Aunque la fuente de energía más común es la radiación solar, es posible que se efectúe mediante el uso de energía química.

Radiación o luz fotosintéticamente activa (PAR): radiación solar emitida en el rango visible, entre 400 y 700 nm, útil para la fotosíntesis.

Retención de nutrientes: capacidad intrínseca de los ecosistemas fluviales para captar, almacenar o incluso eliminar nutrientes inorgánicos.

Ribera: dicese de la franja de vegetación herbácea, arbustiva o arbórea que se desarrolla en la zona hidrológicamente conectada al sistema fluvial.

Servicio (ecosistémico): funciones del ecosistema que derivan de su funcionamiento y que proveen de bienes o beneficios a la sociedad humana.

Seston: es el conjunto de material particulado fino (de 0,45 a 1000 μm) suspendido en la columna de agua, constituido por microorganismos (bacterias, algas, protozoos,

invertebrados, etc.) y por material no vivo (materia orgánica amorfa, detritos y sedimentos inorgánicos).

Sonicación: proceso de aplicación de energía de ultrasonidos suficiente para agitar las partículas adheridas a una superficie y desprenderlas de ésta.

Tasa de asimilación o de captación (U): es la masa de nutriente retenido por unidad de tiempo y superficie e indica la capacidad de retención por parte de un río.

Trazador: elemento conservativo (cloruro) que permite analizar la dinámica hidrológica de un sistema.

Velocidad de asimilación o de captación (V_f): indica la velocidad de movimiento de las moléculas de nutrientes desde la columna de agua al sedimento o al biofilm. Es una medida de la eficiencia del proceso de retención.

Zona de retención transitoria o zona de almacenamiento temporario (ZRT): estructuras que retienen el flujo del agua río abajo. El agua retenida de forma transitoria en estas estructuras (hiporreico, pozas, aguas estancadas) se mantiene durante un tiempo superior al tiempo medio de residencia de la masa de agua que se mueve libremente en el cauce.