



CARACTERIZACIÓN Y TRANSFORMACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DISUELTA EN UN ARROYO PAMPEANO

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS APLICADAS DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJÁN

MARIA LAURA MESSETTA

Director: Dra. Claudia Feijoó
Co-Director: Dr. Andrea Butturini

Lugar de trabajo: Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES),
Programa de Biogeoquímica de Ecosistemas Dulceacuícolas (BED),
Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján.

Resumen

La materia orgánica disuelta (MOD) es una mezcla compleja de compuestos orgánicos solubles que varían en su reactividad y rol ecológico, y es una de las principales fuentes de carbono orgánico biológicamente disponible en los ecosistemas acuáticos. Dependiendo de la fuente que origine el material, la MOD puede ser clasificada como alóctona, autóctona o antropogénica. La dinámica temporal de la MOD del arroyo suele estar gobernada por el régimen de descarga. Conocer la composición química de la MOD es importante, porque los “pools” de MOD químicamente diferentes tienen una diferente susceptibilidad a los procesos de la transformación biogeoquímicos dentro del arroyo. Los principales objetivos de este trabajo fueron: (i) identificar y caracterizar las distintas fuentes potenciales de MOD (agua subterránea, escorrentía superficial y subsuperficial y precipitación), (ii) analizar los cambios en la concentración y composición de la MOD en diferentes condiciones hidrológicas (caudal basal y caudal alto) y (iii) determinar las eficiencias netas de retención / liberación de carbono orgánico disuelto (COD) en el arroyo en diferentes condiciones hidrológicas.

El estudio se realizó en el arroyo Las Flores, un arroyo de tercer orden, perteneciente a la cuenca del río Luján, ubicado al noreste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Este arroyo es considerado representativo de la mayoría de los arroyos pampeanos, con una baja velocidad de corriente, flujo laminar y altas concentraciones de nutrientes, que favorecen el desarrollo de comunidades de macrófitas.

Seleccionamos un tramo de 2,2 km del arroyo Las Flores, el cual se origina en la confluencia de dos tributarios ubicados aguas arriba (B_1 y B_2). El muestreo se llevó a cabo entre septiembre de 2013 y julio de 2015 bajo diferentes condiciones hidrológicas, en condiciones de caudal basal y alto caudal (después de los eventos de tormenta) con el objetivo de incluir la máxima variación natural del caudal del arroyo. En cada ocasión de muestreo, se recolectaron muestras de agua en el sitio A, (ubicado al final del tramo de

estudio), en los dos tributarios ubicados aguas arriba y en las potenciales fuentes que contribuyen al caudal del arroyo (agua subterránea, escorrentía superficial y subsuperficial y precipitación). Además, se realizó el seguimiento de tres eventos de precipitación, recolectando muestras de agua, en la fase ascendente y descendente del hidrograma. En este trabajo la concentración de COD se determinó mediante un autoanalizador de carbono Shimadzu TOCV CSH. Las propiedades ópticas de la MOD del arroyo y de los principales “end members” se determinaron mediante el uso de técnicas combinadas de espectroscopía de absorbancia y fluorescencia.

Nuestros resultados indican que las características químicas de la MOD del arroyo están moduladas principalmente por una contribución diferencial de los “end members” al caudal del arroyo dependiendo de las condiciones hidrológicas. Observamos que la MOD del agua subterránea presenta un origen microbiano, mientras que la MOD en la escorrentía deriva del material vegetal y del suelo. Además en esta tesis encontramos que en condiciones basales, cuando el caudal del arroyo es principalmente mantenido por el flujo de agua subterránea, la MOD está compuesta predominantemente por una mezcla de compuestos derivados de la actividad microbiana (componentes similares a proteínas) y por compuestos húmicos derivados del paisaje circundante, los cuales son transportados al arroyo durante eventos de precipitación. La concentración de COD y los ingresos de sustancias húmicas desde la zona ribereña aumentaron con el aumento de caudal en condiciones de crecida. Las estimaciones del balance de masa revelaron que el tramo de estudio es una fuente importante de COD.

En conclusión, las características químicas de la MOD en el arroyo Las Flores son moduladas principalmente por una contribución diferencial de los “end members” al caudal del arroyo dependiendo de las condiciones hidrológicas. La MOD del arroyo consiste en una mezcla de compuestos proteínicos y húmicos. Los compuestos de tipo proteico derivan principalmente de la contribución de agua subterránea al caudal del

arroyo en condiciones basales y de la producción biológica que ocurre dentro del arroyo, mientras que las fracciones húmicas derivan del lavado de materiales vegetales y del suelo durante eventos de precipitación. Sin embargo, parte de la fluorescencia de tipo húmico podría originarse a partir de la descomposición de las comunidades de macrófitas altamente productivas. En el caso del arroyo Las Flores, los compuestos de tipo proteico parecen tener una contribución más importante a la MOD total, en comparación con lo que ocurre en los sistemas forestados. Nuestros resultados ponen de manifiesto la importancia de las características regionales como el relieve, el tipo de vegetación ribereña, el contenido orgánico del suelo y la presencia de macrófitas en la modulación de las propiedades químicas de la MOD en los arroyos no forestados.

Abstract

The Dissolved organic matter (DOM) is a complex mixture of soluble organic compounds that vary in their reactivity and ecological role, and it is the main source of biologically available organic carbon in aquatic ecosystems. Depending on its source, DOM can be classified as either allochthonous, autochthonous or anthropogenic. The temporal dynamics of stream DOM is usually governed by the discharge regime. Understanding the chemical composition of DOM is important, because chemically different DOM pools have different susceptibility to biogeochemical transformation processes within streams. The aim of our study was; (i) to characterize the composition of DOM in stream water and their potential sources (groundwater, overland flow, subsurface flow and rain water) (ii) to analyse changes in DOM concentration and composition under different hydrological conditions (baseflow and high flow) and (iii) to determine net in-stream retention/release efficiencies of dissolved organic carbon (DOC) under different hydrological conditions.

This study was carried out in Las Flores stream, a third-order stream located in the Luján River basin in the northeast of the Buenos Aires province, Argentina. This stream is considered representative of most Pampean streams, with low water velocity, laminar flow due to the gentle slope of the region and high nutrient levels that favour the development of abundant macrophyte communities. We selected a 2.2 km reach of Las Flores stream, which originates at the confluence of two tributaries (B_1 and B_2). Sampling was conducted from 2013 to 2015 under different hydrological conditions, from baseflow to high flow (after storm events) to include natural variation of stream discharge. On each sampling occasion, we collected water samples at the end of a reach (site A), at two upstream tributaries (B_1 and B_2), and at the potential hydrological contributors to stream flow (groundwater, overland and subsurface flows, and rainfall). In addition, we monitored three storm events, collecting samples during the rising and the recession limb of the hydrograph. DOC concentration was measured through high temperature catalytic

oxidation on a Shimadzu TOCV CSH analyser. DOM optical properties in the stream and end members were determined by combining absorbance-fluorescence spectroscopy techniques.

Our results indicated that DOM chemical characteristics in the stream were mainly modulated by a differential contribution of end members to stream water depending on hydrological conditions. We observed that DOM in groundwater showed mostly a microbial origin while DOM in runoff waters was terrestrially-derived. We find that at baseflow conditions, when stream flow is mainly maintained by groundwater inflow, DOM is predominately composed by a mixture of compounds derived from microbial activity (protein-like components) and those derived from the terrestrial landscape, which is transported to the stream during storm events. DOC concentration and inputs of humic substances from the riparian zone increased with discharge at high flow conditions. Mass balance estimates revealed that the study reach is as a source of DOC.

In conclusion, DOM chemical characteristics in Las Flores stream are mainly modulated by a differential contribution of end members to stream water depending on hydrological conditions. Stream DOM consists of a mixing of proteinaceous and humic compounds. Protein-like compounds mainly derived from groundwater contribution at baseflow and in-stream production, while humic-like fractions derived from materials washed out during storm events and transported to the stream. However, part of humic-like fluorescence could originate from the breakdown of highly productive macrophyte communities. In the case of Las Flores stream, protein-like components seems to have a more relevant contribution to the total DOM pool than in forested systems. Our results highlight the importance of regional characteristics like relief, type of riparian vegetation, soil organic content, and the presence of aquatic macrophytes in modulating DOM chemical properties in open-canopy streams.

Agradecimientos

Hacer un doctorado, escribir una tesis no son tareas sencillas... pero mas allá de cualquier dificultad con la que me he encontrado a lo largo de esta etapa puedo decir lo disfrute y mucho, y que no lo hice sola, sino que muchas personas me acompañaron en este camino. Por eso quiero agradecer a todos aquellos que me brindaron su ayuda y apoyo, y sin la cual todo hubiera sido mas difícil...

En primer lugar quiero agradecer a mis directores, la Dra. Claudia Feijoó y el Dr. Andrea Butturini, por su guía durante el doctorado, por brindarme su conocimiento y el tiempo que me dedicaron. Por el apoyo y el aliento constante, por la confianza y por creer en mi, incluso cuando ni yo lo hacía. Por los consejos...

Al Dr. José Manuel Aguirre, Director del Doctorado en Ciencias Aplicadas de la Universidad Nacional de Luján, por la predisposición y las rápidas respuestas a todas las inquietudes que le he planteado.

Un enorme GRACIAS (que queda chico) a Joan Pere Casas Ruiz, por su gran ayuda en lo relacionado con el PARAFAC! por siempre estar bien predispuesto y atento a mis dudas! Gracias porque tu ayuda fue muy importante y sin la cual todo hubiera sido mas difícil!

A Eduardo Zunino por la construcción y la puesta en funcionamiento de los colectores para los end members. A Gonzalo Paz, Jeanine Steverlitz, Andres Solá y Juan Rojas quienes nos permitieron acceder a los sitios de muestreo.

A la UNLu por poner a disposición los vehiculos y a los choferes para poder realizar los muestreos.

A las 429, Ceci y Vicky... GRACIAS por recibirme con los brazos abiertos, por ayudarme y enseñarme cómo funcionaba todo en aquellos primeros días. Por los mates de yuyos y la mesita de lo dulce, por hacer todo de a tres (se extraña!). Pero lo más importante por acompañarme, alentarme y brindarme su amistad! Las quiero un montón! Un GRACIAS

adicional a la hermana mala y compañera de aventuras... en este momento, mientras escribo me acuerdo de ese primer muestreo (pufff) y lo recuerdo con una sonrisa... Gracias Ceci!

Al ECO I Team, Carlos, Mariu, Gaby y Vir! Gracias por los buenos momentos compartidos en estos años y por el aguante!

A los ECOLOCOS! Leo, Carlos, Lili, Fer, Patricia, Claudia, Andrea, Mariu, Ceci, Lu, Gaby, Moni, Marina, gracias por los lindos momentos compartidos! Porque siempre hay un motivo para celebrar!

A mis amigas del alma, Ani y Ana, GRACIAS por tantos años de amistad, por estar conmigo siempre! Las quiero mucho!!! A las amigas que la música me dio! GRACIAS Belu y Eli, por tantos momentos compartidos, por acompañarme y alentarme siempre!!! Las quiero mucho!!! A todas GRACIAS por ser parte de mi vida!

A mi familia, mis viejos Mirta y Osvaldo, a mi hermana Vero, a Seba, Ivi y Fechu, gracias por siempre apoyarme, por alentarme en todo lo que he decidido hacer y acompañarme en todo momento! Los amo!

A mi compañero en la vida, Ignacio gracias por ser mi apoyo incondicional, por creer en mí y por siempre alentarme a seguir, Gracias por acompañarme porque sin vos no hubiera llegado hasta acá! Te amo!

Tabla de contenido

Resumen	1
Abstract	4
Agradecimientos	6
Capítulo 1 - Introducción General	
1.1-Características de la materia orgánica disuelta (MOD).....	10
1.2-Importancia de la MOD en los sistemas acuáticos. Origen de la MOD.....	13
1.2.1-Transformaciones de la MOD en los sistemas acuáticos.....	15
1.3-Propiedades ópticas de la MOD.....	16
1.3.1-Espectroscopia de absorción y Fluorescencia para el estudio de la MOD.	17
Capítulo 2 - Objetivos e Hipótesis	
Construcción de la hipótesis de trabajo.....	19
Objetivos.....	21
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos.....	21
Hipótesis.....	21
Predicciones.....	22
Capítulo 3 - Sitio de estudio y descripción del área	
3.1-Sitio de estudio.....	23
3.2-Ecorregión Pampeana.....	24
3.3-Pampa Ondulada.....	25
3.4-Arroyos pampeanos.....	25
3.5-Arroyo Las Flores.....	26
Capítulo 4 - Metodología	
4.1- Diseño de Muestreo.....	27
4.2-Medición de Caudal.....	30
4.3-Procesamiento de muestras.....	31
4.3.1-Materia orgánica disuelta.....	32
4.3.2-Espectroscopía de absorción y fluorescencia.....	32
4.3.2.1-Fundamentos metodológicos para la caracterización de la MOD por espectroscopía de absorción.....	32
4.3.2.2-Fundamentos metodológicos para la caracterización de la MOD por espectroscopía de fluorescencia.....	34
Capítulo 5 - Hidrología: Interacción entre el freático y el arroyo	
Introducción.....	39
Metodología.....	40
Resultados.....	42
Discusión.....	46
Capítulo 6 - Caracterización y cambios cualitativos de la MOD en relación a las condiciones hidrológicas	
Introducción.....	48
Metodología.....	49
Tratamiento de los datos.....	49
Resultados.....	50
Discusión.....	60

Capítulo 7 - Balance de masas en un tramo del arroyo Las Flores	
Introducción.....	67
Metodología.....	70
Resultados.....	74
Discusión.....	79
Capítulo 8 - Caracterización de la MOD aplicando el Parallel Factor Analysis (PARAFAC)	
Introducción.....	85
Metodología.....	89
Resultados.....	91
Discusión.....	97
Capítulo 9 - Influencia del uso de suelo sobre la MOD	
Introducción.....	102
Metodología.....	103
Resultados.....	106
Discusión.....	110
Capítulo 10 - Discusión general.....	113
Capítulo 11 - Conclusiones.....	120
Anexo capítulo 7: PCA de los principales iones conservativos utilizados en la determinación de los “end members.....	122
Bibliografía.....	125
Lista de figuras y tablas.....	141

Capítulo 1 - Introducción General

1.1 - Características de la materia orgánica disuelta (MOD)

La MOD es considerada una de las principales fuentes de carbono orgánico biodisponible en los ecosistemas acuáticos y su dinámica tiene implicancias para el ciclo del carbono a escala local y global (Battin et al., 2008; Fellman et al., 2010). Todos los cuerpos de agua contienen materia orgánica disuelta (MOD) (Stedmon & Cory, 2009). La MOD normalmente representa el ~60 % de la carga de carbono orgánico total en ríos y más del 95 % del carbono detrítico en la columna de agua en los océanos (Hansell et al., 2009; Stets & Striegl, 2012). Es por ello que la MOD desempeña un rol clave en el ciclo global del carbono, ya que es el mayor reservorio de carbono orgánico de la tierra (Findlay & Sinsabaugh, 2003).

El término MOD hace referencia al “pool” de moléculas orgánicas disueltas en el agua. Operacionalmente, se define como la fracción de moléculas orgánicas que pasa a través de un filtro de 0,47 μm de abertura de poro (McDonald et al., 2004). Sin embargo, más allá de esta clasificación operacional, las moléculas de la MOD son altamente heterogéneas y presentan una amplia variedad de estructuras y propiedades químicas (Filella, 2008). Actualmente se conoce poco acerca de los compuestos que constituyen la MOD, pero se sabe que incluye ácidos húmicos y fúlvicos derivados del material vegetal y del suelo, así también como compuestos derivados de la degradación del material particulado, de la producción biológica, o de sustancias excretadas o liberadas por los organismos *in-situ* (Blough & Del Vecchio, 2002; Rochelle-Newall & Fisher, 2002; Nelson et al., 2004; Del Vecchio & Blough, 2004; Steinberg et al., 2004). Podría decirse entonces que la MOD está constituida por una fracción húmica, que incluye moléculas grandes y complejas, ricas en grupos aromáticos, cuyas estructuras químicas son muy heterogéneas y poco conocidas, y

que representa entre el 50 y 75 % de la MOD total, y una fracción constituida por biomoléculas bien conocidas y simples, que incluyen principalmente lípidos, proteínas y carbohidratos, y que representan entre el 20 y el 40 % del total de la MOD (Volk et al., 1997).

La composición y cantidad de la MOD en los arroyos es el resultado del aporte de las diferentes fuentes y procesos biogeoquímicos que ocurren *in-situ*, incluyendo, la biodegradación, la fotodegradación o floculación (Aitkenhead-Peterson et al., 2003; Sinsabaugh & Foreman, 2003; Sachse et al., 2005 Casas-Ruiz et al., 2016). Dependiendo de la fuente que origina el material, la MOD puede ser autóctona, alóctona o antropogénica. Los procesos biológicos que ocurren dentro del arroyo constituyen una fuente de MOD autóctona. La producción *in-stream* del perifiton, macrófitas y fitoplancton así también como de bacterias y hongos aportan MOD al arroyo, pero también los procesos de liberación extracelular, la descomposición y la excreción (Allan, 1995; Bertilsson & Jones, 2003). En general la MOD autóctona incluye compuestos simples tales como lípidos, polisacáridos, ácidos nucleicos y aminoácidos, pero también se ha observado liberación de sustancias húmicas de bajo peso molecular y bajo contenido aromático (Romera-Castillo et al., 2010). Se trata de una fracción altamente lábil que soporta altas tasas de crecimiento bacteriano y por lo tanto es rápidamente utilizada (Ogawa et al., 2001; Del Giorgio & Pace, 2008; Kothawala et al., 2013; Shimotori et al., 2012; Asmala et al., 2014). El material alóctono incluye todo el material que el arroyo recibe y que se origina en la producción que ocurre fuera del cauce, y frecuentemente constituye la mayor fracción de MOD que ingresa al arroyo (Allan 1995, Wetzel, 2001). La MOD alóctona proviene del lixiviado de las plantas y suelos orgánicos de la cuenca, y su transferencia a los arroyos está regulada en su mayor parte por la escorrentía superficial y los flujos subsuperficiales de agua (Aitkenhead-Peterson et al., 2003). Por último en aquellas cuencas influenciadas por las actividades antrópicas, la calidad y cantidad de la MOD puede verse alterada. Estas alteraciones pueden deberse por un lado a cambios en el uso de suelo (como por ejemplo,

la intensificación de la agricultura) y, por otro lado puede deberse al vuelco directo de aguas residuales, por lo que se la denomina MOD antropogénica (Ejarque-Gonzalez, 2014).

La cantidad y composición de la MOD que circula por los cuerpos de agua, depende de la combinación de estas fuentes y los procesos biogeoquímicos que tienen lugar en la red fluvial. La cantidad de la MOD suele estar regida por el régimen hidrológico (Butturini et al., 2005, Neal et al., 2005).

La composición del agua de un arroyo está influenciada por diversos factores, entre los que se incluyen el caudal, la escorrentía desde la ribera y el paisaje circundante, el uso de suelo predominante y la actividad metabólica de los organismos en el cauce (Arreghini et al., 2005). Si bien en los arroyos pampeanos los caudales suelen ser bajos, son frecuentes los eventos de crecida durante los cuales el caudal del arroyo puede incrementarse varias veces en cortos periodos de tiempo (Vilches et al., 2014, Rodríguez Castro et al., 2015). Con relación a esto, estudios anteriores han reportado un aumento en la concentración de MOD debido al incremento de materiales alóctonos que ingresan desde la zona ribereña durante las crecidas (Serrano, 1992; Bernal et al., 2002 Vilches et al., 2014). Por otro lado, se ha observado también un incremento en la concentración de MOD durante los periodos de sequía, debido a una acumulación de materia orgánica en el lecho de los arroyos (como hojas y ramas) provenientes de la vegetación ribereña y a los procesos de producción autóctona (Romaní et al., 2006, Ylla et al., 2010). Si bien la concentración de MOD aumenta bajo ambas condiciones hidrológicas (crecidas y sequías), su composición química es diferente. Ejarque-Gonzalez (2014) reportó cambios en la composición química de la MOD, la cual pasó de tener una composición en la que predominan las fracciones proteicas durante condiciones basales o de sequía a una composición en la cual predominaban las fracciones húmicas durante las crecidas.

La mayoría de los estudios que relacionan la concentración de MOD con las variaciones hidrológicas han sido llevados a cabo en arroyos forestados del hemisferio norte (por

ejemplo en Europa y Estados Unidos) y del hemisferio sur (por ejemplo en Bariloche, Pcia. de Río Negro), y en ellos se han observado pulsos de MOD durante el otoño asociado a la caída de las hojas y ramas provenientes del bosque ribereño (Vázquez et al., 2007; Romaní et al., 2006; Ylla et al., 2010; Garcia et al., 2015). Sin embargo, este tema ha sido poco desarrollado en nuestro país donde los arroyos son altamente productivos y los pastizales son la vegetación ribereña característica, que aportan bajos insumos de MOD alóctona. Además la baja velocidad de corriente y la alta irradiancia (debido a la ausencia de bosque de ribera) favorece el desarrollo de comunidades de macrófitas. A diferencia de lo que ocurre en los arroyos forestados del hemisferio norte, la vegetación herbácea como principal vegetación riparia sumado al desarrollo de macrófitas proporcionan una MOD más degradable.

1.2 - Importancia de la MOD en los sistemas acuáticos.

Las redes fluviales relacionan múltiples componentes del paisaje, incluyendo los suelos y el agua subterránea con la atmósfera y los océanos. Anualmente los ríos y arroyos a nivel mundial transportan, transforman y almacenan aproximadamente 2 Pg (10^{15} gramos) del carbono orgánico terrestre (Battin et al., 2008).

La MOD tiene una alta movilidad y reactividad, por lo que desempeña un rol central en el ciclo global del C y la circulación rápida de energía y nutrientes dentro y entre ecosistemas (Kaiser & Kalbitz, 2012; Chen & Jaffé, 2014). Así, los aportes de MOD terrestres resultan fundamentales para la biota en los ecosistemas dulceacuícolas, ya que sustentan la producción de organismos heterótrofos a lo largo de las redes tróficas (Hall et al., 2001; Carpenter et al., 2005; Cole et al., 2007).

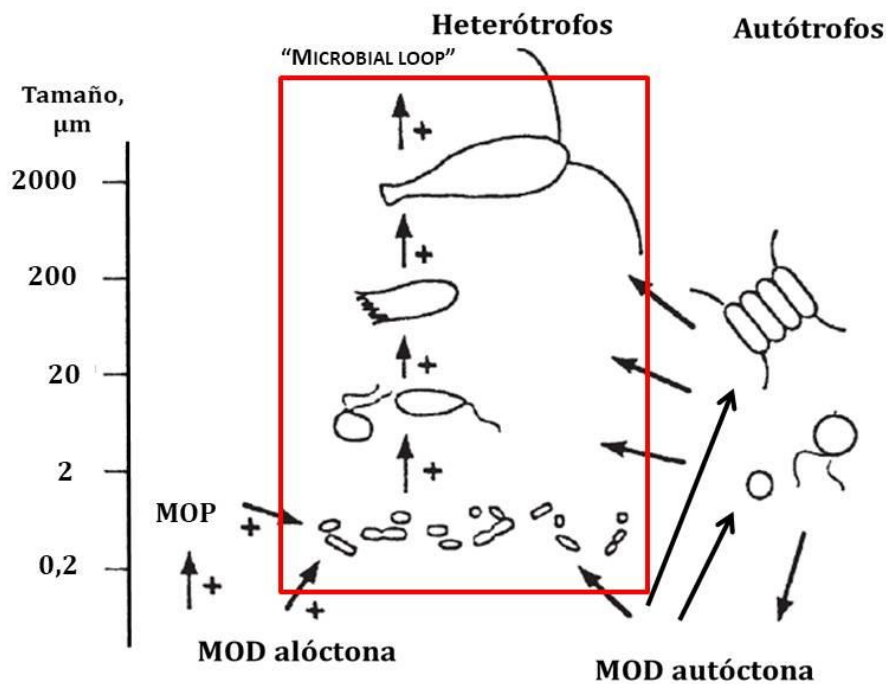


Fig. 1: Esquema de una red trófica en la que se incluye el "microbial loop" reincorporando la MOD liberada por autótrofos a la red trófica a través de las bacterias y protozoos. La MOD alóctona, es directamente incorporada a través de la agregación de la MOD en partículas (POM). Los procesos potencialmente mejorados a través de la influencia de la MOD alóctona se indican con '+'. Modificado de Fenchel (1986).

La MOD ingresa así al "microbial loop" donde es procesada y transformada en biomasa (Allan, 1995; Wetzel, 2001). Si bien la producción primaria acuática puede ser importante, gran parte de la energía que sostiene a las tramas tróficas fluviales deriva del subsidio de MOD proveniente desde la cuenca (Fig. 1) (Aufdemkampe et al., 2011; Stets & Striegl, 2012; Tanentzap et al., 2014).

1.2.1 - Transformaciones de la MOD en los sistemas acuáticos

Una vez que ingresa a los cuerpos de agua, a través de cualquiera de las fuentes mencionadas anteriormente, la MOD forma una mezcla compleja que es transportada aguas abajo (Ejarque-Gonzalez, 2014), y al mismo tiempo interviene en diversas transformaciones biológicas y fotoquímicas antes de que sea descargada en los océanos (Miller & Zepp, 1995; Opsahl & Benner, 1998; Tranvik, 1998). Las transformaciones que tienen lugar durante su pasaje a través del sistema fluvial dependerán de la susceptibilidad de las moléculas para ser transformadas por un proceso biogeoquímico, y de la presencia de condiciones ambientales necesarias para que estos procesos tengan lugar. Existen dos procesos principales que afectan la cantidad y composición de la MOD en ambientes acuáticos: la biodegradación y la fotodegradación (Kieber et al., 1990; Miller & Moran 1997; Del Vecchio & Blough, 2002). Ambos procesos conducen a la conversión de MOD en compuestos inorgánicos (por ejemplo, CO₂) con la subsecuente eliminación de la columna de agua y la alteración de su composición química (Hansen et al., 2016). Las bacterias heterotróficas pueden incorporar compuestos simples directamente a través de sus membranas o captar compuestos más complejos (como los compuestos húmicos), los cuales son previamente hidrolizados por medio de exoenzimas (Montuelle & Volat, 1993). Durante este proceso se produce la pérdida del material lábil, alifático de bajo peso molecular como proteínas, lípidos y ácidos orgánicos (Mopper & Schultz 1993; Wetzel et al., 1995; Moran & Zepp, 1997). Sin embargo, esto puede estar acompañado por la producción de material aromático, de alto peso molecular (como ácidos húmicos o fúlvicos) a través de la transformación de los compuestos existentes o la producción de nuevos compuestos por los organismos heterótrofos (Repeta et al., 2002; Stepanauskas et al., 2005). El resultado de estas transformaciones es la oxidación completa de la MOD a CO₂, de modo que es eliminada del sistema acuático. Por otro lado, la radiación solar tiene el potencial de alterar las propiedades espectrales y moleculares de la MOD. Debido a su

capacidad química de interactuar con la radiación, la exposición de la MOD a la radiación solar promueve su degradación a fotoproductos más pequeños (como compuestos alifáticos de bajo peso molecular, monóxido de carbono, ácidos carboxílicos, etc.) que son luego eliminados del ambiente acuático a través de la volatilización de gases como el CO₂ o mediante el rápido consumo por parte de los microorganismos (Mopper & Schultz, 1993; Miller & Zepp, 1995; Moran & Zepp, 1997; Bertilsson & Tranvik, 2000; Weyhenmeyer et al., 2012). La fracción de la MOD que no es remineralizada a través de los procesos mencionados anteriormente, tiene sólo dos posibles destinos: o bien se almacena dentro del sistema (como biomasa de los organismos vivos, más biomasa muerta o almacenamiento abiótico adicional) o bien se exporta (Cole et al., 2007). Los ríos y arroyos son además fuentes netas de CO₂ a la atmósfera. Este exceso de CO₂ deriva del aporte de carbono orgánico que es respirado en el suelo o el agua subterránea (Jones & Mulholland, 1998, Telmer & Vezier, 1999), o dentro del arroyo.

1.3 - Propiedades ópticas de la MOD

Como se mencionó anteriormente la MOD consiste en una mezcla de compuestos hidrocarbonados aromáticos y alifáticos, con varios grupos funcionales menores unidos (como grupos amida, carboxilo, cetona, etc.). Los agregados moleculares heterogéneos en aguas naturales aumentan la complejidad de la MOD (Leenheer & Croué, 2003). La MOD incluye un rango de compuestos de alto a bajo peso molecular, con diferente solubilidad, reactividad y propiedades ópticas dependiendo de su estructura molecular (Aiken, 2014). La distinción entre la materia orgánica disuelta (<0.45µm), coloidal (la fracción a la cual se solapan el material disuelto y particulado) y la materia orgánica particulada (MOP, >0.45µm) es importante a la hora de estudiar sus propiedades ópticas, debido a que los métodos espectroscópicos como la absorbancia UV-Vis y la fluorescencia son sensibles a la presencia de material particulado (Saraceno et al., 2009).

La absorción de la luz en el rango UV-visible implica la excitación de electrones asociados con enlaces químicos en el estado electrónico basal (orbitales enlazantes) a un estado excitado (orbitales antienlazantes). Este proceso es sensible a la estructura química, y las estructuras que absorben luz denominadas *chromóforos*. Una vez excitados a un estado electrónico y vibracional superior, las moléculas regresan a su estado fundamental a través de varios caminos, incluyendo la fluorescencia en la cual la molécula en un estado excitado emite luz UV o visible. La estructura molecular es un factor importante que influye en la intensidad y en la ubicación de los máximos de fluorescencia.

Debido a la estructura química de los compuestos que integran la MOD y a que la absorción y la fluorescencia son fenómenos relacionados, es posible obtener información acerca de la química que controla las propiedades ópticas de la MOD (Boyle et al., 2009).

1.3.1 - Espectroscopia de absorción y Fluorescencia para el estudio de la MOD.

El estudio de la naturaleza y la importancia ambiental de la materia orgánica presente naturalmente en las aguas, se ve obstaculizada por su inherente complejidad, lo que plantea una serie de problemas analíticos (Aiken & Leenheer, 1993). En el estudio de las propiedades ópticas de la MOD, métricas como la absorbancia específica UV (SUVA), la pendiente espectral (Spectral slope, SS) o el índice de humificación (HIX) brindan información sobre la aromaticidad y el tamaño molecular aparente de la MOD (Weishaar et al., 2003; Helms et al., 2008), y pueden ser utilizadas, por ejemplo, para evaluar las fuentes de MOD en los sistemas acuáticos (Huguet et al., 2009; Catalán et al., 2013). Estos parámetros han mostrado ser útiles en diversas disciplinas relacionadas con las ciencias del agua para el monitoreo de la concentración y naturaleza de la MOD en sistemas acuáticos (Weishaar et al., 2003; Helms et al., 2008; Spencer et al., 2009). Las técnicas ópticas a menudo se eligen como una herramienta para caracterizar MOD debido al costo relativamente bajo de análisis y las bajas exigencias en la preparación de la muestra.

Aunque la aplicación de las técnicas de espectroscopía no es nueva en relación al estudio de compuestos orgánicos naturales, estas técnicas están siendo cada vez más usadas para el estudio de la MOD en un amplio rango de sistemas acuáticos naturales como los ambientes los marinos y dulceacuícolas, pero también se aplica al estudio de aguas residuales (Aiken, 2014). Por ejemplo, la caracterización fluorimétrica de la MOD ha mostrado como los procesos fotoquímicos inducen cambios en la MOD (Moran et al., 2003; Cory et al., 2007; Stedmon et al., 2007). También se han utilizado las medidas fluorimétricas para determinar los efectos actuales y futuros del uso de suelo y prácticas de manejo sobre la biogeoquímica de los sistemas acuáticos (Wilson & Xenopoulos, 2009; Williams et al., 2010). Por otra parte, la fluorescencia debida a los compuestos de tipo proteico tiene una gama de aplicaciones en estudios ecológicos por medio del seguimiento de su dinámica en el campo o en experimentos de laboratorio (Fellman et al., 2008; Balcarczyk et al., 2009; Lapworth et al., 2009). Por ejemplo, la fluorescencia de compuestos proteicos se ha asociado a la labilidad de la MOD (Fellman et al., 2009a; Hood et al., 2009) y a la producción bacteriana (Cammack et al., 2004), y podrían citarse numerosos ejemplos más.

Como hemos mencionado anteriormente, la aplicación de estas técnicas ha tenido un gran desarrollo en los últimos años. Sin embargo en nuestro país el estudio de la MOD a través de sus propiedades ópticas ha sido poco abordado. Recientemente Garcia et al. (2015) han estudiado los flujos de carbono en arroyos andino-patagónicos empleando las propiedades de la MOD. En esta tesis se pretende avanzar en el conocimiento de las características químicas de la MOD en arroyos pampeanos, determinar su origen y las principales transformaciones en las que está involucrada aplicando técnicas combinadas de espectroscopía de absorción y fluorescencia. La información generada en esta tesis, servirá para establecer condiciones de línea de base para la región.

Capítulo 2 - Objetivos e Hipótesis

Construcción de la hipótesis de trabajo

En los arroyos pampeanos, la ausencia de bosques de ribera en las cabeceras, la presencia de vegetación herbácea (que aporta poco material alóctono), la baja velocidad de corriente y la alta irradiancia favorecen el desarrollo de comunidades de macrófitas, en torno a las cuales se estructuran el resto de las comunidades (Giorgi et al., 2005). Se favorece así la producción primaria, por lo que los arroyos pampeanos tienden a ser autotróficos en su funcionamiento (Vilches & Giorgi, 2010; Acuña et al., 2011; Garcia et al., 2017). En los últimos años, se han comenzado a realizar estudios tendientes a comprender y caracterizar los procesos funcionales que ocurren en los ecosistemas fluviales pampeanos. Así, se han estimado la retención de nutrientes (Feijoó et al., 2011; Garcia et al., 2017) y los procesos metabólicos (producción y respiración) (Vilches & Giorgi, 2010; Acuña et al., 2011; Garcia et al., 2017) en tramos de estos arroyos. Sin embargo, el procesamiento de C disuelto es un aspecto que aún no ha sido abordado en el estudio de la ecología de arroyos y ríos pampeanos. Asimismo, y según la revisión bibliográfica que hemos efectuado, aún no se ha caracterizado la materia orgánica disuelta (MOD) en estos ambientes pese a que las técnicas necesarias no son complejas. En los últimos años, la región Pampeana ha estado atravesando grandes cambios en el uso de suelo debido a la intensificación de las actividades agrícola-ganaderas y la creciente urbanización. Por lo que es esperable que estos cambios produzcan modificaciones en la calidad y cantidad de materia orgánica que ingresa en los sistemas fluviales o que es producida *in situ*, como así también en la capacidad de transformación de esta materia por el ecosistema. Sin embargo, estos aspectos no han sido explorados, y el impacto producido por la variación del uso de suelo en las cuencas está ocurriendo sin que se conozca cómo son los ciclos y transformaciones del carbono disuelto en los arroyos de la región. Por otra parte, los modelos usuales de

cambio climático predicen un aumento de la temperatura y de las precipitaciones en la región pampeana (Hulme & Sheard, 1999; Milly et al., 2005), con el consiguiente cambio en los patrones de escorrentía y un aumento del caudal de ríos y arroyos. Estas modificaciones también producirían un impacto sobre el balance de C en los sistemas fluviales. En estudios previos se ha observado el incremento en la concentración de C disuelto con el incremento de caudal, tanto en arroyos del hemisferio norte (Buffam et al., 2001; Bernal et al., 2002; Butturini et al., 2006; Vidon et al., 2008; Raymond & Saiers, 2010; Guarch-Ribot & Butturini, 2016), como en arroyos pampeanos (Arreghini et al., 2005).

En los últimos años se han realizado avances en la caracterización de la MOD, que han permitido entender que la misma está constituida por una mezcla compleja de compuestos orgánicos solubles. El metabolismo y dinámica de la MOD depende de su composición química, la cual a su vez es determinada por las fuentes que aportan materia orgánica (Cory et al., 2010). El desarrollo de métodos relativamente simples para la caracterización óptica de la MOD, como la fluorimetría y la espectrofotometría, han permitido generar gran cantidad de información confiable sobre las fuentes y reactividad biológica de la MOD (Fellman et al., 2010).

Poder distinguir las entradas de C originadas en el río (autóctonas) de las derivadas del paisaje terrestre (alóctonas) resulta central para entender su contribución relativa a la biogeoquímica de la materia orgánica. En esta tesis se caracterizó la MOD de un tramo de un arroyo pampeano y de las principales fuentes que contribuyen al caudal, y se realizaron balances de masa para comprender las transformaciones de la MOD, bajo diferentes condiciones hidrológicas.

Objetivos

Objetivo general

Analizar el origen y procesamiento del carbono en un arroyo de cabecera pampeano.

Objetivos específicos

1. Identificar y caracterizar las distintas fuentes potenciales de MOD en un tramo del arroyo.
2. Analizar los cambios cualitativos y cuantitativos de la MOD en el tramo, diferenciando los cambios producidos por el ingreso de materiales terrestres (alóctonos) de los asociados a procesos internos fluviales (autóctonos).
3. Realizar un balance de masas de la MOD en el tramo del arroyo en condiciones basales y de alto caudal, para estimar la eficiencia de retención de la MOD.
4. Proponer un modelo descriptivo del transporte y transformación de la MOD a escala de tramo.

Hipótesis

Nuestra *hipótesis de trabajo* es que los eventos de crecida afectan la composición química y la dinámica (transporte, transformación y retención) de la MOD en el tramo estudiado en relación a las condiciones basales. Por lo tanto, nuestras predicciones son:

Predicciones

1. En condiciones basales, la MOD será principalmente de origen autóctono (debida a la producción biológica y descomposición *in-situ*), con aportes menores provenientes del freático, y con una mayor preponderancia de compuestos de tipo proteico.
2. Durante las crecientes la MOD será mayoritariamente alóctona y de origen terrestre, con preponderancia de compuestos más refractarios.
3. En condiciones basales, los procesos de transformación (procesamiento y producción *in-situ*) de la MOD tendrán mayor relevancia que en condiciones de crecida, lo que se reflejará en una mayor retención de la MOD en el tramo.
4. Durante las crecientes, aumentarán los aportes terrestres de MOD alóctona en detrimento de la MOD de origen autóctono, lo que producirá cambios en la calidad de la MOD del tramo, aumentando la presencia de compuestos refractarios y la exportación de MOD aguas abajo.

Además de los objetivos planteados en esta tesis, se analizará adicionalmente la influencia del uso de suelo sobre los niveles del MOD, considerando la importancia que se otorga a este factor en la bibliografía (Wilson y Xenopoulos, 2009). Esta información se presentará en el capítulo 9: *"Influencia del uso de suelo sobre la MOD"*.

Capítulo 3 – Área de Estudio

3.1 - Sitio de Estudio

El estudio se realizó en el arroyo Las Flores, un arroyo de tercer orden, perteneciente a la Cuenca del río Lujan, ubicado en el noreste de la provincia de Buenos Aires ($34^{\circ}27'35''\text{S}$ - $59^{\circ}04'27''\text{W}$) (Fig. 2). Este arroyo es considerado representativo de la mayoría de los arroyos de la cuenca del río Luján y de gran parte de los arroyos de la provincia de Buenos Aires que recorren llanuras (Feijoó & Lombardo, 2007) por sus características fisicoquímicas y biológicas (Feijoó & Lombardo, 2007; Feijoó et al., 2011). El arroyo Las Flores ha sido afectado en una pequeña extensión por las actividades humanas, ya que en la zona se desarrollan actividades ganaderas y rurales. Si bien en su curso no recibe ingresos de contaminantes puntuales, uno de los tributarios (B₂) recibe las aguas de tratamiento de una industria láctea.

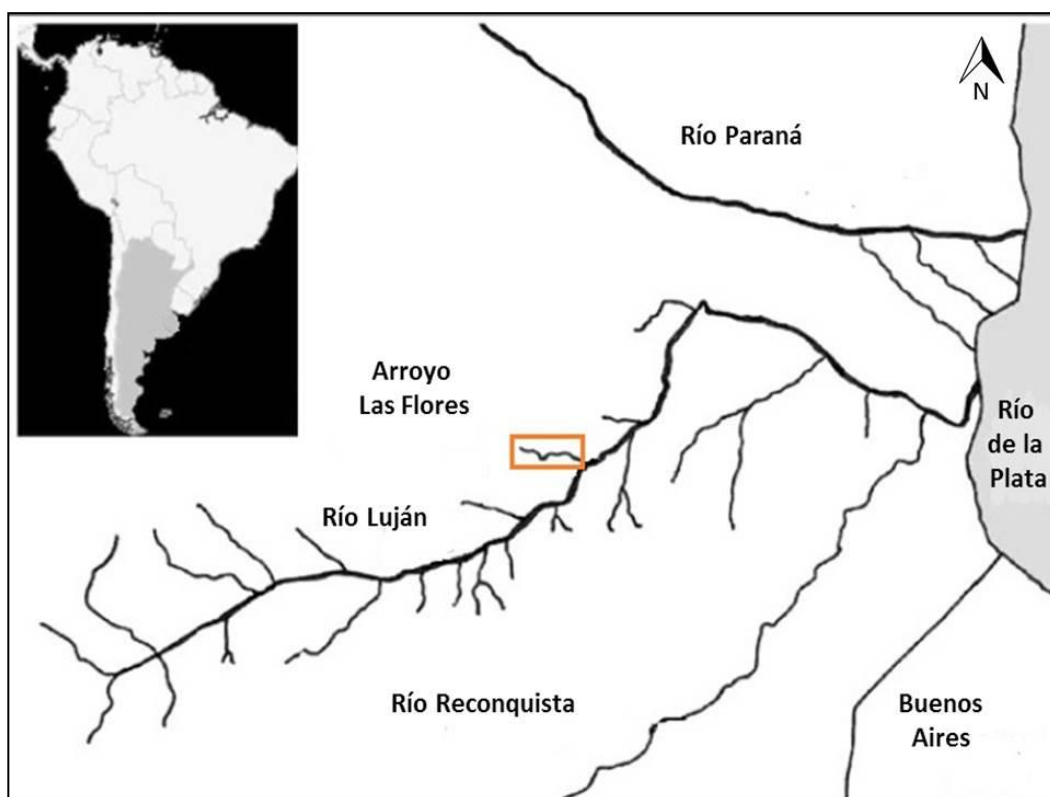


Fig. 2: Ubicación del arroyo Las Flores en la cuenca del río Lujan. Modificado de Vilches & Giorgi, 2010

A continuación se describe el área de estudio, siguiendo una descripción general de la región y luego una caracterización de los arroyos pampeanos y el sitio de estudio.

3.2 - Ecorregión Pampa

La Ecorregión Pampa comprende una extensa planicie de 540.000 km², ubicada en el centro este de la Argentina. Por su extensión, la Ecorregión Pampa constituye el más importante ecosistema de praderas en la Argentina (Viglizzo, 2006).

En general el relieve de la región es llano, pero existen zonas con leves ondulaciones o planicies que pueden anegarse. Comprende también serranías bajas y planicies, campos de dunas fosilizadas, arenales y espejos de agua permanentes o temporales. El drenaje de la zona norte de la región se da por cursos paralelos de agua que drenan en los ríos principales hacia el norte. Estos arroyos terminales se encuentran surcados en sedimentos del cuaternario. En cambio, el drenaje de la zona sur se da directamente al Océano Atlántico (Matteuchi, 2012).

La vegetación dominante es la estepa o pseudoestepa de gramíneas y su composición de especies varía según las características del clima local y del suelo. Aunque predomina la vegetación herbácea, en algunas zonas pueden encontrarse parches de bosques introducidos o neoeosistemas formados por un estrato arbóreo de especies exóticas y estratos bajos de especies nativas. La Ecorregión Pampa es la zona de producción agrícola ganadera más antigua de la Argentina y en la actualidad la mayor parte de los pastizales han sido convertidos a cultivos o a pasturas, encontrándose paisajes seminaturales agrícolas, agrícolas, rurales, suburbanos y urbanoindustriales (Ghersa et al., 1998; Matteuchi, 2012).

La Ecorregión Pampa ha sido subdividida en dos subregiones (Subregión de La Pampa Húmeda y de La Pampa Subhúmeda), en base a las condiciones climáticas, disponibilidad de humedad, y en 11 complejos según el relieve, topografía y tipo de suelo (Matteuchi,

2012). En base a esta subdivisión, el arroyo Las Flores estudiado en esta tesis, pertenece a la subregión de la Pampa Húmeda y, en particular, al complejo de la Pampa Ondulada (García, 2016).

3.3 - Pampa Ondulada

La Pampa Ondulada constituye una franja de 120 a 180 km de ancho 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 (Matteuchi, 2012)

El clima puede clasificarse como subtropical o templado, sin estación seca marcada y con veranos cálidos. La temperatura media anual oscila entre los 17 y los 18°C al norte del complejo y entre 14 y 15°C al sur. Las temperaturas medias mensuales son de 20°C en verano y 12°C en invierno (Matteuchi, 2012). La precipitación media anual varía entre 600 y 1200mm, con niveles máximos en primavera y otoño (Morello & Matteuchi, 1997)

3.4 - Arroyos pampeanos

Los arroyos pampeanos se originan en depresiones someras con plantas emergentes como *Schoenoplectus californicus* o *Typha latifolia*, que también pueden encontrarse en sus cursos medios (Vilches & Giorgi, 2010). Se caracterizan por presentar bajas velocidades de corriente (en general, no superan los 0,5 m s⁻¹), lechos formados por sustrato duro y homogéneo con sedimentos finos (limos y arcillas) y un alto contenido de carbonato de calcio. La mayoría de estos arroyos son alimentados principalmente por aguas subterráneas, aunque durante las crecientes extraordinarias, el caudal es aportado por las precipitaciones (Sala et al., 1983). Además se caracterizan tener elevada conductividad, pH elevado, altas concentraciones de oxígeno disuelto, altas concentraciones de nutrientes, y baja profundidad. Sin embargo, la mayoría de las variables físicas y químicas presentan un amplio rango de variación debido a la ocurrencia de inundaciones y cambios estacionales en el caudal (Giorgi et al., 2005).

La ausencia de bosques de ribera en las cabeceras, favorece la llegada de la radiación solar al fondo de los arroyos. Por otro lado la vegetación herbácea aporta poca materia orgánica autóctona, lo que junto con la elevada irradiación, permite el desarrollo de densas comunidades de macrófitas y algas epifitas que crecen asociadas al fondo (Feijoó et al., 1999; Giorgi et al., 2005; Vilches & Giorgi, 2010). La alta biomasa de vegetación sumergida sugiere que micrófitas y algas epifitas, contribuyen sustancialmente a la productividad de estos arroyos. Sin embargo, durante las crecientes pueden producirse cambios importantes en el funcionamiento del arroyo (Vilches & Giorgi, 2010).

3.5 - Arroyo Las Flores

El arroyo Las Flores es un 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°0), 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 y en su curso, se diferencian zonas de aguas rápidas de otras de aguas remansadas en las que predomina la sedimentación de material fino y de materia orgánica. Su ancho varía entre 0,5 y 11 m, y su profundidad entre 9 y 100 cm; el caudal promedio es de 30 l s⁻¹ y la velocidad de corriente es baja (~0,2 m s⁻¹; Feijoó et al., 2012). Si bien sus características fisicoquímicas son similares a otros arroyos de la cuenca del río Luján, el arroyo Las Flores es el menos alcalino de la cuenca y posee la menor conductividad promedio. Contrariamente, posee mayor cantidad de material particulado en suspensión y materia orgánica particulada y es uno de los arroyos con las concentraciones basales de nutrientes más elevadas (fósforo y nitrógeno) (Feijoó et al., 1999).

Capítulo 4 - Metodología

4.1 - Diseño de Muestreo

Se seleccionó un tramo del arroyo Las Flores de 2,2 km de longitud, el cual se origina en la confluencia de dos tributarios (B_1 y B_2), cada uno con diferentes subcuencas (18.6 km^2 para el B_1 y 13.3 km^2 para el B_2). El B_2 , recibe el efluente proveniente del tratamiento de las aguas residuales de una industria láctea local, mientras que el B_1 atraviesa un área con un uso ganadero y no recibe fuentes de contaminación puntual (Fig. 3).

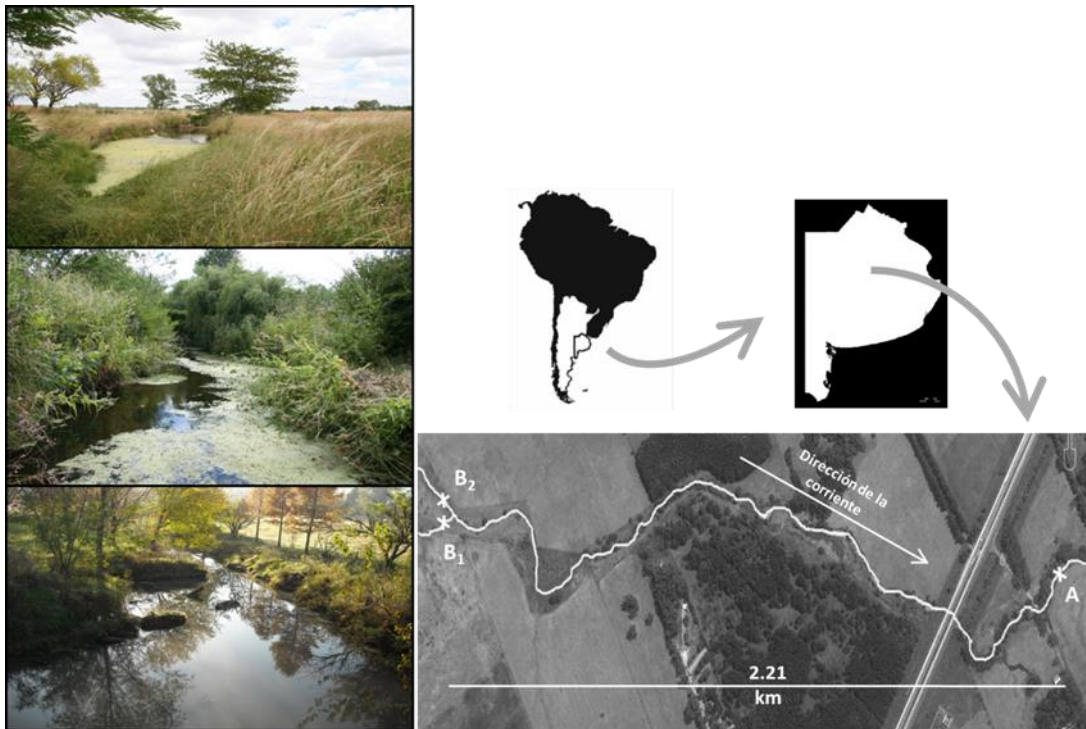


Fig. 3: Ubicación del Arroyo las Flores y los puntos de muestreo B_1 , B_2 y A (ubicado aguas abajo).

Al final del tramo, se instalaron colectores que permitieron muestrear las distintas fuentes que aportan al caudal o “end members”. Los diferentes colectores permitieron obtener muestras del agua subterránea (acuífero no confinado freático o F), escorrentías superficial (E_{SUP}) y subsuperficial (E_{SUB}) y el agua de la lluvia (LI). El agua subterránea fue

muestreada utilizando un piezómetro ubicado a un metro del arroyo (Fig. 4). El piezómetro consistió en un tubo de PVC de 11 cm de diámetro y 4 m de profundidad, con ranuras en los últimos 3 m. La muestra de agua subterránea se colectó por medio de una bomba peristáltica. Previamente a la toma de la muestra, el piezómetro fue purgado por un mínimo de 3 volúmenes del piezómetro. La escorrentía superficial se muestreó por medio de un canal de PVC, de dos metros de longitud aproximadamente, situado en forma paralela al curso del arroyo y cubierto con una lámina de policarbonato que impedía la entrada del agua de lluvia. El canal estaba conectado a través un tubo plástico flexible a un recipiente de 20 l de capacidad, desde el cual se recolectaba la muestra (Fig. 4). Las muestras de escorrentía subsuperficial fueron colectadas en un recipiente de PVC (15 cm de diámetro y 30 cm de profundidad), al cual se le realizaron ranuras en los 15 cm superiores. El balde se enterró con las ranuras ubicadas de manera tal que quedaran localizadas sobre el límite entre el suelo superficial rico orgánico y el subsuelo arcilloso, para recoger el agua de lluvia que se infiltra a través de los horizontes superficiales y fluye entonces entre el suelo y el subsuelo en dirección al arroyo. Las muestras de E_{SUB} fueron colectadas desde el recipiente, mediante el uso de una bomba peristáltica. También se colectaron muestras de lluvia mediante un pluviómetro ubicado en un área abierta a una distancia de 200 m del arroyo. Además de las muestras de los “end members” mencionados anteriormente, se tomaron muestras del arroyo (A) y de los dos brazos (B_1 y B_2) que lo conforman. En ambos brazos, las muestras se tomaron, justo antes de la confluencia de éstos con el arroyo.

Se realizaron 18 muestreos entre septiembre de 2013 y julio de 2015. Los muestreos se realizaron bajo diferentes condiciones hidrológicas, con caudal basal y caudales altos (luego de una precipitación), para abarcar la máxima variación natural del caudal del arroyo. En cada ocasión de muestreo, las muestras se recogieron al día siguiente de la precipitación, por lo que permanecieron menos de 12 hs en los diferentes dispositivos de muestreo. Luego de la recolección de las muestras, los colectores se vaciaron y limpiaron.

Para minimizar la contaminación, las muestras se conservaron en hielo para mantenerlas frías y en oscuridad hasta su traslado y análisis en el laboratorio. Las muestras fueron filtradas dentro de las 3 horas posteriores a su recolección. Además se realizó el seguimiento de tres eventos de precipitación intensivamente, durante 8 días en mayo de 2014 (otoño), durante 3 días en enero de 2015 (verano) y durante 7 días en julio de 2015 (invierno). Durante los eventos de precipitación, las muestras fueron colectadas a intervalos regulares en la fase ascendente del hidrograma hasta alcanzar el pico, y luego a intervalos mayores hasta alcanzar nuevamente las condiciones iniciales. Cabe destacar que el seguimiento de los eventos de precipitación se realizó en el punto A, ubicado aguas abajo (Fig. 3), dado que debido a las condiciones climáticas no fue posible acceder a los sitios de muestreo de los tributarios.



Fig. 4: Coletores para la toma de muestras de la escorrentía subsuperficial y el agua subterránea (arriba) y pluviómetro y colector de escorrentía superficial (abajo).

Previo al inicio de los muestreo se instaló en el arroyo un medidor de nivel (levellogger Solinst 3001 LT F15/M5) para el registro continuo de la profundidad del agua. Otro levellogger fue instalado en el interior de uno de los piezómetros, lo que permitió tener

registro del nivel del freático. Ambos leveloggers se compensaron barométricamente mediante un barologger Edge (Solinst 3001 LT FE/M15). En cada ocasión de muestreo se midió la velocidad del agua, mediante el uso de un velocímetro (Schiltknecht MiniAir20). Los datos de velocidad fueron usados para calcular el caudal por el método de la velocidad - área (detallado más adelante), tanto en el arroyo como en los tributarios (Gordon et al., 1992). A partir de éstos se obtuvo una relación empírica entre el caudal del arroyo y el nivel del agua medido por el levelogger, lo que nos permitió tener un registro continuo del caudal del arroyo a partir de la profundidad ($R^2= 0,94$) (eq. 1)

$$Q = 0.0656 * h^{2.443} \quad [\text{volumen tiempo}^{-1}] \quad (\text{eq. 1})$$

Donde Q es el caudal (en l s^{-1}) y h es el nivel del arroyo (en m).

En cada una de la muestras colectadas (A, B₁, B₂, E_{SUP}, E_{SUB}, F y LL) se midieron en el campo los parámetros fisicoquímicos, temperatura (T, °C), pH, conductividad eléctrica (EC, $\mu\text{S cm}^{-1}$) y oxígeno disuelto (mg l^{-1}) con una sonda multiparametrica Hach HQ40D.

4.2 - Medición del Caudal

En cada ocasión de muestreo se determinó el caudal (Q) por el método de la velocidad-área (Gordon et al., 1992) en cada uno de los brazos (B₁ y B₂) y en el punto del arroyo (A) ubicado aguas abajo.

Para la medición del caudal se midió el ancho húmedo del cauce y, a continuación, la profundidad de segmentos ubicados a intervalos regulares (cada 10 cm para los brazos y cada 20 cm para el punto A aguas abajo). En cada uno de los segmentos se midió la velocidad media (V_i) mediante un correntímetro de hélice marca Schiltknecht MiniAir20. En aquellos casos en los que la profundidad superó por más de 5 veces el diámetro de la hélice, se midieron las velocidades a dos profundidades y luego se halló el promedio de las mismas (Fig. 5) (Elosegui et al., 2009).

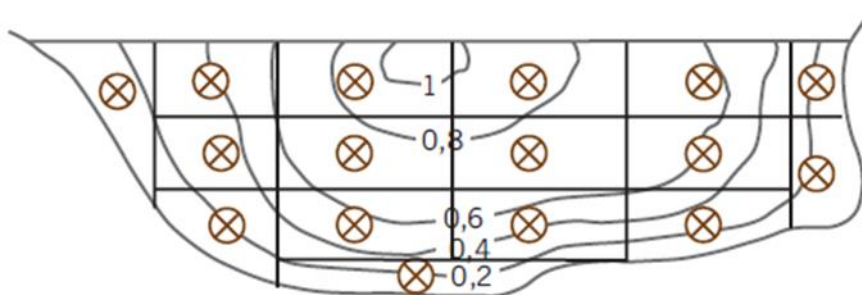


Fig. 5: Tomado de Elozegi et al., 2009. Representación de sección del cauce, en las que se midió la velocidad (círculos) y la profundidad

En base a los datos de ancho y profundidad, se determinó el área de sección transversal (A). El caudal se obtuvo a partir de la sumatoria del producto entre la velocidad media (V_i) y el área de sección transversal (A) de los segmentos a lo largo del cauce (Di Baldassarre & Montanari, 2009).

$$Q_{obs} = \sum_{n=i}^n V_i * A$$

Los datos de caudal se usaron para obtener una relación empírica entre el caudal del arroyo y la altura de la columna de agua medida con el levelogger (tal como se mencionó en la sección 4.1), lo que nos permitió tener un registro continuo del caudal del arroyo entre julio de 2013 y agosto de 2015.

4.3 - Procesamiento de muestras

Las muestras de agua se colectaron en frascos de polietileno, previamente lavados con ácido clorhídrico (HCl) al 10% y enjuagados con abundante agua ultrapura (Milli-Q). Una vez colectadas, las muestras se mantuvieron en oscuridad y refrigeradas hasta su traslado al laboratorio.

Para el análisis de la materia orgánica disuelta (MOD), las muestras de agua colectadas fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio GF/F (0,7 μ m de abertura de poro)

muflados, y conservadas a 4 °C hasta su análisis. Posteriormente, se separaron 25 ml del filtrado para la determinación del carbono orgánico disuelto (COD), mientras que otros 30 ml fueron nuevamente filtrados a través de filtros de membrana de nylon (0,25 mm de diámetro y 0,2 µm de poro) para las determinaciones espectrofluorimétricas. En este trabajo, la concentración de COD será usada como un indicador cuantitativo de la concentración de materia orgánica disuelta (MOD).

4.3.1 - Materia Orgánica Disuelta

Los 25 ml filtrados a través de los filtros los GF/F se colectaron en botellas de vidrio color caramelo para minimizar la exposición a la luz y fueron acidificados con HCl 10% para la conservación de las muestras. La concentración de COD se midió a través del método de oxidación catalítico usando un autoanalizador de carbono (Shimadzu TOC VCSH).

4.3.2 – Espectroscopía de absorción y fluorescencia

4.3.2.1 – Fundamentos metodológicos para la caracterización de la MOD por espectroscopía de Absorción

Para la caracterización espectrofotométrica de la MOD, cada una de las muestras previamente filtradas a través de filtros de nylon de 0,2µm, se dejaron alcanzar temperatura ambiente (20°C) y a continuación se midió el espectro de absorción entre 190 y 800 nm en un espectrofotómetro Agilent 8453 diode (Agilent Technologies, Germany) utilizando cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico y agua ultra pura Milli-Q como blanco de referencia. La lectura de los espectros de absorción se realizó dentro de los tres días de colectadas las muestras. El promedio de las absorbancias entre 700 y 800 nm fue sustraído de cada espectro para corregir por la línea de base del instrumento (Green & Blough, 1994; Helms et al., 2008; Casas-Ruiz et al., 2016).

Las medidas de absorbancia fueron convertidas a coeficientes de absorción a través de la siguiente formula.

$$a = \frac{2.303 A}{l}$$

Donde a = coeficiente de absorción (m^{-1}) A = absorbancia, y l = longitud de paso óptico (m) (Helms et al., 2008).

Los coeficientes de absorción determinados a diferentes longitudes de onda, junto con índices espectrales, fueron utilizados para determinar diferentes características de la MOD. El coeficiente de absorción a 254nm (a_{254}) es un indicador de la aromaticidad de la MOD (Green & Blough, 1994) y es utilizado como indicador de la concentración de MOD cromoforica (coloreada).

La absorbancia específica a 254 (SUVA, $l \text{ mg}^{-1} \text{ m}^{-1}$), se calculó dividiendo el coeficiente de absorción a 254 (m^{-1}) por la concentración de COD (mg l^{-1}). Este índice está asociado al contenido de carbono aromático: cuanto mayor es el índice, mayor el contenido de C aromático (Fig. 6) (Weishaar et al., 2003).

Además se determinó la pendiente espectral (SS) para el intervalo 275-295 y 350-400 nm ($S_{275-295}$ y $S_{350-400}$, respectivamente), ajustando el espectro de absorción a una curva exponencial decreciente mediante regresión no lineal (utilizando el programa SigmaPlot). A partir de estas pendientes, se estimó un parámetro adimensional, denominado S_R (Slope Ratio, Fig. 6), como el cociente entre las pendientes $S_{275-295}$ y $S_{350-400}$ (Helms et al., 2008). Helms et al. (2008), demostró que $S_{275-295}$ y el S_R están inversamente relacionados al peso molecular de la MOD en muestras de agua. Valores del índice mayores o iguales a uno, indican una MOD con un bajo peso molecular, mientras que valores del índice menores a uno, indican una MOD de alto peso molecular.

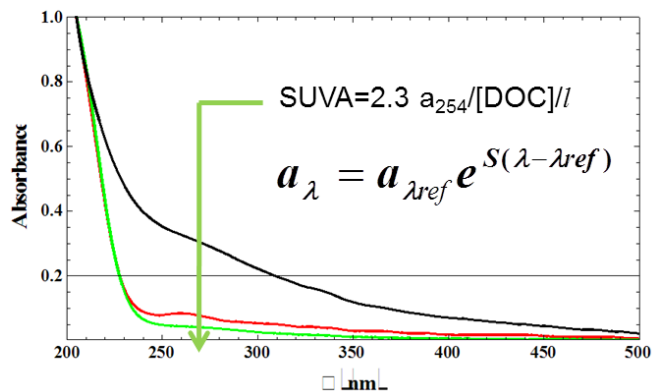


Fig. 6: Región del espectro de absorción para el cálculo del SUVA y la pendiente espectral

4.2.2.2 - Fundamentos metodológicos para la caracterización de la MOD por espectroscopía de fluorescencia

Para la caracterización de la MOD a través de la espectroscopia de fluorescencia, las muestras fueron tratadas de la misma manera que la mencionada anteriormente para espectrofotometría.

La caracterización fluorimétrica de la MOD se llevó a cabo a través de las matrices de excitación-emisión (Excitation-Emission matrices o EEMs) y mediante diversos índices fluorimétricos. Las EEMs se obtienen a partir de la combinación de espectros de emisión de fluorescencia, medidos para un rango creciente de longitudes de onda de excitación diferentes. Las EEMs, permiten analizar la fluorescencia completa de la muestra, como superficies topográficas de la luz emitida función de la excitación (Fig. 7). De esta manera, se generan curvas de contorno con máximos de emisión de fluorescencia de diferentes intensidades localizados en diversas coordenadas de excitación-emisión (Ex/Em). La ubicación de los máximos de emisión y excitación depende de la composición de la MOD. Cada uno de los máximos que se observan en una matriz de excitación y emisión corresponde a fluoróforo (Teymuri, 2007).

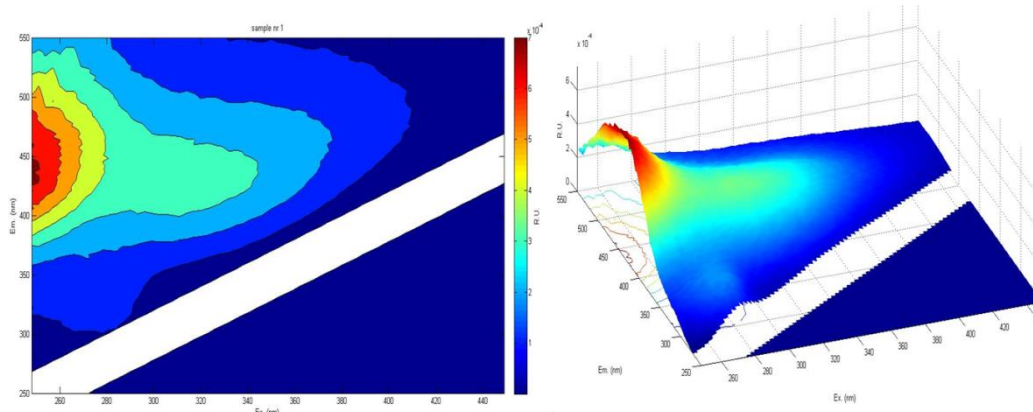


Fig. 7: Representación gráfica de una matriz de excitación - emisión (EEM), en el plano (izq) o tridimensional (derecha.).

Las EEMs fueron obtenidas usando un espectrofluorómetro (F-7000, Hitachi, Japan), midiendo la intensidad de fluorescencia para el rango de longitudes de onda de excitación de 248 a 449 nm a intervalos de 3 nm y en el rango de emisión de 250 a 550 nm a intervalos de 3 nm. El ancho de banda de excitación y emisión fue de 5 nm.

Las muestras de agua se midieron a temperatura ambiente y a cada una de las matrices se le sustrajo un blanco, usando para ello la EEM del agua Milli-Q (medida cada 10 muestras). Los espectros de absorbancia medidos en el espectrofotómetro se utilizaron para realizar la corrección de cada una de las matrices por el “inner filter effect”, el cual es debido a una disminución de la fluorescencia observada debido a la absorción de la fluorescencia por la misma muestra (Lakowicz, 2006).

A partir de las EEMs, se obtuvieron las intensidades de fluorescencia de los principales máximos de excitación y emisión (fluoróforos) relacionados con la composición de la MOD. El “Peak picking” es un método cuantitativo mediante el cual se registran las intensidades de fluorescencia de los picos, dentro de regiones de interés predefinidas (Korak et al., 2014). Coble et al. (1996) y Parlanti et al. (2000) identificaron cinco fluoróforos en muestras de ambientes marinos y dulceacuícolas (Fig. 8) (Tabla 1).

Tabla 1: Denominación común para los picos de fluorescencia observados en una EEMs de MOD acuática

Componente	ex (nm)	em (nm)	Coble (1996)	Parlanti et al. (2000)
Tipo humico	250-260	380-480	A	α'
Similar tirosina	270-280	300-320	B	γ
Tipo húmico	330-350	420-480	C	α
Tipo húmico derivado de la producción	310-320	380-420	M	β
Similar triptofano	270-280	320-350	T	δ

Nota: El pico M, ha sido observado posteriormente en ambientes no marinos

Los picos A y C emiten fluorescencia a longitudes de onda larga (entre 400 y 460 nm) y están relacionados con compuestos de tipo húmico derivados principalmente de fuentes terrestres. El pico M también está relacionado con sustancias húmicas, pero el máximo de emisión está desplazado a longitudes de onda más corta (entre 370 y 430 nm), por lo que se considera que son compuestos menos aromáticos y de menor peso molecular, derivados de la actividad biológica (Stedmon & Cory, 2014). Los picos B y T, (llamados *Tyrosine-like* y *tryptophan-like*, respectivamente, debido a que la fluorescencia es similar a la de los aminoácidos tirosina y triptófano libres), tienen máximos de excitación y emisión a longitudes de onda más cortas que los compuestos húmicos (entre 300 y 350 nm).

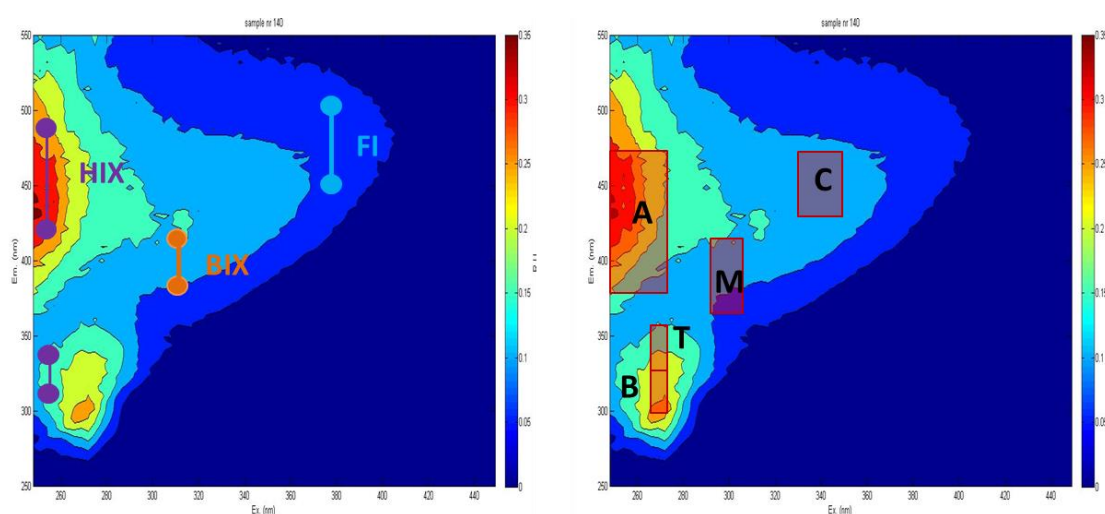


Fig. 8: Región del espectro de emisión para el cálculo de los índices HIX, BIX y FI (izquierda) y ubicación de los principales fluoróforos encontrados en las EEMs (derecha).

Estos picos se asocian a materiales de tipo proteico (ya sea proteínas o aminoácidos libres) de diferente origen, relacionados en general con la labilidad de la MOD (Balcarczyk et al., 2009; Guillemette & del Giorgio, 2011). La fluorescencia debida a este tipo de compuestos se asocia también a materiales autóctonos, derivados de la producción biológica y degradación de material vegetal (Stedmon & Cory, 2014). En esta tesis se informa la intensidad de fluorescencia de un punto estacionario (longitud de onda fija) dentro de cada una de las regiones de interés mencionada anteriormente (Leenheer, 2009; Lonborg et al., 2010; Murphy et al., 2010; Romera-Castillo et al., 2011).

Se calcularon además los siguientes índices de fluorescencia: índice de humificación (HIX), índice biológico (BIX) e índice de fluorescencia (FI). El HIX, se calculó siguiendo la metodología propuesta por Zsolnay et al. (1999), dividiendo el rango de intensidad de emisión de fluorescencia que va de 435 nm a 480 nm y el rango de intensidades entre 300 nm y 345 nm para una excitación fija de 254 nm. Lo que los autores proponen es que un incremento en el HIX está asociado a un aumento en la longitud de onda de emisión debido a una mayor policondensación (baja relación H/C de los compuestos). Dado que la humificación se relaciona con una disminución en la relación H/C, Zsolnay et al. (1999) sugieren que el índice representa el grado de humificación de la MOD (Gabor et al., 2014). Valores altos del índice de humificación corresponden a la máxima intensidad de fluorescencia a longitudes de onda larga y, de ese modo, a la presencia de moléculas complejas (Senesi et al., 1991).

El BIX se calculó como el cociente entre la intensidad de fluorescencia emitida a 380 nm y la intensidad de fluorescencia emitida a 430 nm, para una excitación de 310 nm. Este índice considera la presencia de actividad biológica. Un incremento en el índice se relaciona con un incremento en la intensidad del fluoróforo M (o pico β , según Parlanti et al., 2000), asociado con componentes húmicos derivados de la producción biológica.

Valores del índice cercanos a 1, se relacionan con un alto contenido de MOD autóctona y de origen microbiano, recientemente producida (Huguet et al., 2009).

El FI es un indicador del origen del material orgánico precursor. Se calcula como el cociente entre la intensidad de fluorescencia emitida a 470 nm y la intensidad de fluorescencia emitida a 520 nm, para una excitación de 370 nm. Los valores más altos del índice (1,7 a 2,0) corresponden a una MOD derivada de fuentes microbianas, asociadas a la producción fitoplanctónica, mientras que valores bajos (1,2 a 1,4) derivan del material vegetal (hojas, ramas, etc.) y del suelo (Cory & MacKnight, 2005).

Capítulo 5 - Hidrología: Caracterización hidrológica del arroyo Las Flores

Introducción

Las aguas subterráneas y las aguas superficiales no son componentes aislados del sistema hidrográfico, sino que interactúan en relación al clima y a la fisiografía (Sophocleous, 2002). El caudal de los ríos es alimentado por el agua de lluvia ya sea directamente a través de la escorrentía superficial o bien a través del flujo de agua subterránea (Elosegui et al., 2009). Una parte del agua que penetra en los suelos vuelve a la atmósfera, a través de la evapotranspiración, y el resto se moverá a través de los poros del suelo, hasta alcanzar el nivel freático. El nivel freático marca el límite superior de los acuíferos no confinados. Si llega mucha agua por infiltración, el nivel freático sube y la presión hidrostática empuja en el acuífero. Si el nivel freático llega hasta la superficie del suelo, encontramos fuentes en las cuales el acuífero descarga en los cauces fluviales (Elosegui et al., 2009). En épocas en las cuales no ha llovido el caudal deriva del freático mientras que cuando hay precipitaciones, el caudal puede derivar de la escorrentía superficial y subsuperficial y del aporte directo de las lluvias (Elosegui et al., 2009). Entonces hay ríos o tramos de ríos que ganan agua desde el freático (río ganador) mientras que en otros pierden agua hacia el freático (río perdedor) y otros alternan tramos ganadores y perdedores, dependiendo de si el nivel freático sube o baja en función de las condiciones climatológicas de la región (Fig. 9).

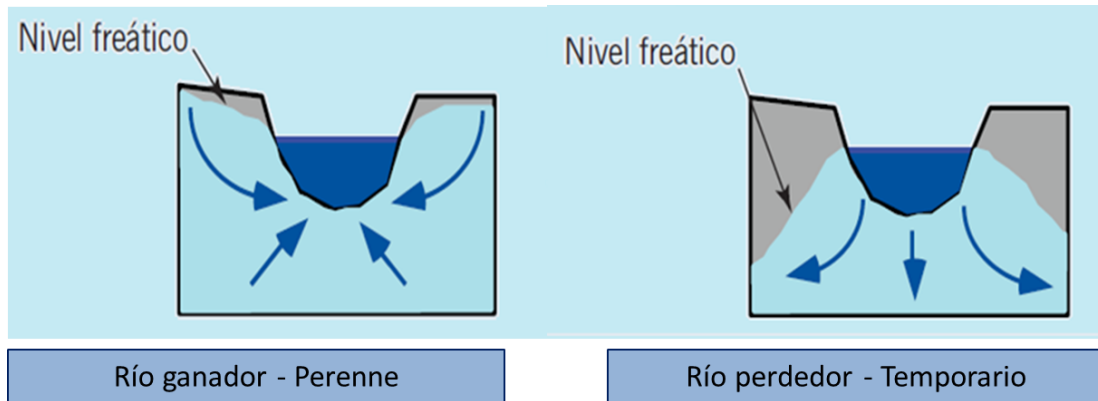


Fig. 9: Figura modificada a partir de Elosegui et al., 2009. Esquema de un río ganador y un río perdedor.

La caracterización hidrológica es fundamental para conocer las interacciones biogeoquímicas entre el río y su entorno más próximo. La caracterización hidrológica consiste en estimar la dirección y velocidad del agua, y la permeabilidad de los sedimentos (Elosegui & Butturini, 2009). Este es uno de los primeros estudios realizados en la región en el que se ha llevado un registro continuo de los datos hidrológicos en un sistema fluvial. En este capítulo se describirán las principales características de la hidrología del arroyo Las Flores.

Metodología

Como se mencionó anteriormente, se realizaron 18 muestreos con una periodicidad que varió en función de las condiciones climáticas. El intervalo de tiempo entre muestreos fue menor a los 15 días. Los muestreos se realizaron en condiciones de caudal basal y en condiciones de alto caudal (luego de una precipitación), con el objetivo de abarcar la máxima variación natural del caudal del arroyo, entre los meses de julio de 2013 y agosto de 2015. En cada uno de los eventos de muestreo se registró el nivel del agua en el arroyo y en el freático medido en el piezómetro situado a 1 m del arroyo. Además de los

muestreos periódicos, se realizó el seguimiento de tres eventos de precipitación, durante mayo de 2014, enero y julio de 2015.

A partir de los datos del caudal del arroyo y el nivel del agua medido por el levellogger (Solinst 3001 LT F15/M5), se obtuvo una relación empírica que permitió tener un registro continuo del caudal del arroyo a partir de la profundidad (ver eq. 1, capítulo 4). La relación entre la altura y el caudal se usó para estimar el caudal del arroyo durante los eventos de precipitación, cuando los altos caudales impidieron la medición directa del caudal.

La caracterización hidrológica se realizó determinando la dirección y la velocidad del agua subterránea. La dirección del agua se obtuvo a partir del gradiente hidráulico (i), que permite identificar la dirección del flujo hidrológico. Se define como la pendiente entre el nivel del agua en el piezómetro y el nivel del agua del arroyo, y permite identificar los flujos desde el freático al arroyo o viceversa (eq. 2, Elosegui & Butturini, 2009).

$$i = \frac{(h-h_s)}{dZ} \quad (\text{eq. 2})$$

donde h es la altura del freático y h_s es la altura del arroyo, medidas en metros con respecto a un nivel de referencia, dZ es la distancia vertical entre el piezómetro y el arroyo también medida con respecto al nivel de referencia. Si i es negativo entonces el agua fluvial alimenta al agua subterránea y si i es positivo, el agua subterránea alimenta al arroyo.

Una vez cuantificada la dirección del flujo hidrológico subterráneo, se calculó su velocidad a través de la ecuación de Darcy (eq. 3):

$$v=ki \quad (\text{eq. 3})$$

Donde v es la velocidad ideal (o velocidad de Darcy), k es la conductividad hidráulica del sedimento subterráneo saturado de agua y i es el gradiente hidráulico (Elosegui & Butturini, 2009).

Resultados

Caracterización hidrológica: arroyo, tributarios y aguas subterráneas

El caudal del arroyo osciló entre 6,6 y 72208 l s⁻¹ con un promedio de $547,8 \pm 7$ l s⁻¹ durante el periodo de estudio (julio de 2013 – agosto de 2015, incluyendo los tres eventos de precipitación.). Los caudales máximos coincidieron con severos eventos de precipitación, mientras que los caudales mínimos se observaron durante periodos de sequía. Durante los eventos de precipitación, el caudal basal del arroyo se incrementó entre 2 y 300 veces y la altura aumentó 10 veces (entre 0,19 y 2,0 m de altura) (Tabla 2).

Tabla 2: Caudal (l.s⁻¹) y profundidad del arroyo (m) para los tres eventos de precipitación. Los datos de caudal mostrados en esta tabla se obtuvieron a partir de la aplicación de la eq. 1 a los datos de profundidad medidos con el levellogger.

	Mayo 2014		Enero 2015		Julio 2016	
	Caudal (l.s ⁻¹)	Nivel (m)	Caudal (l.s ⁻¹)	Nivel (m)	Caudal (l.s ⁻¹)	Nivel (m)
Media ±EE	3615,25 ± 144,8	0,58 ± 0,01	117,48 ± 1,79	0,21 ± 0,0013	1482 ± 86,57	0,38 ± 0,01
Max	27748,9	2,01	227,77	0,28	20359,98	1,77
Min	89,62	0,19	57,61	0,16	57,4	0,16
Mediana	260,19	0,3	108,29	0,21	132,04	0,23
N	2115		717		1987	

Con respecto a los tributarios, el caudal en B₁ fue un poco mayor que el caudal del B₂ (89 ± 2 y 64 ± 1 L s⁻¹, respectivamente). El caudal del arroyo (expresado como como log Q) se aproximó a una distribución log-gaussiana, cuya media fue $1,960 \pm 0,001$, y la mediana de 1,869 (Fig. 12a). A partir de las gráficas de frecuencia acumulada - Log Q, se observó que en el 76 % de los casos, la medición del caudal fue menor a 100 l s⁻¹ y que en el 90 % de

los casos fueron menores a 300 l s^{-1} , lo que indica que la magnitud del caudal en condiciones basales es menor a los 100 l s^{-1} .

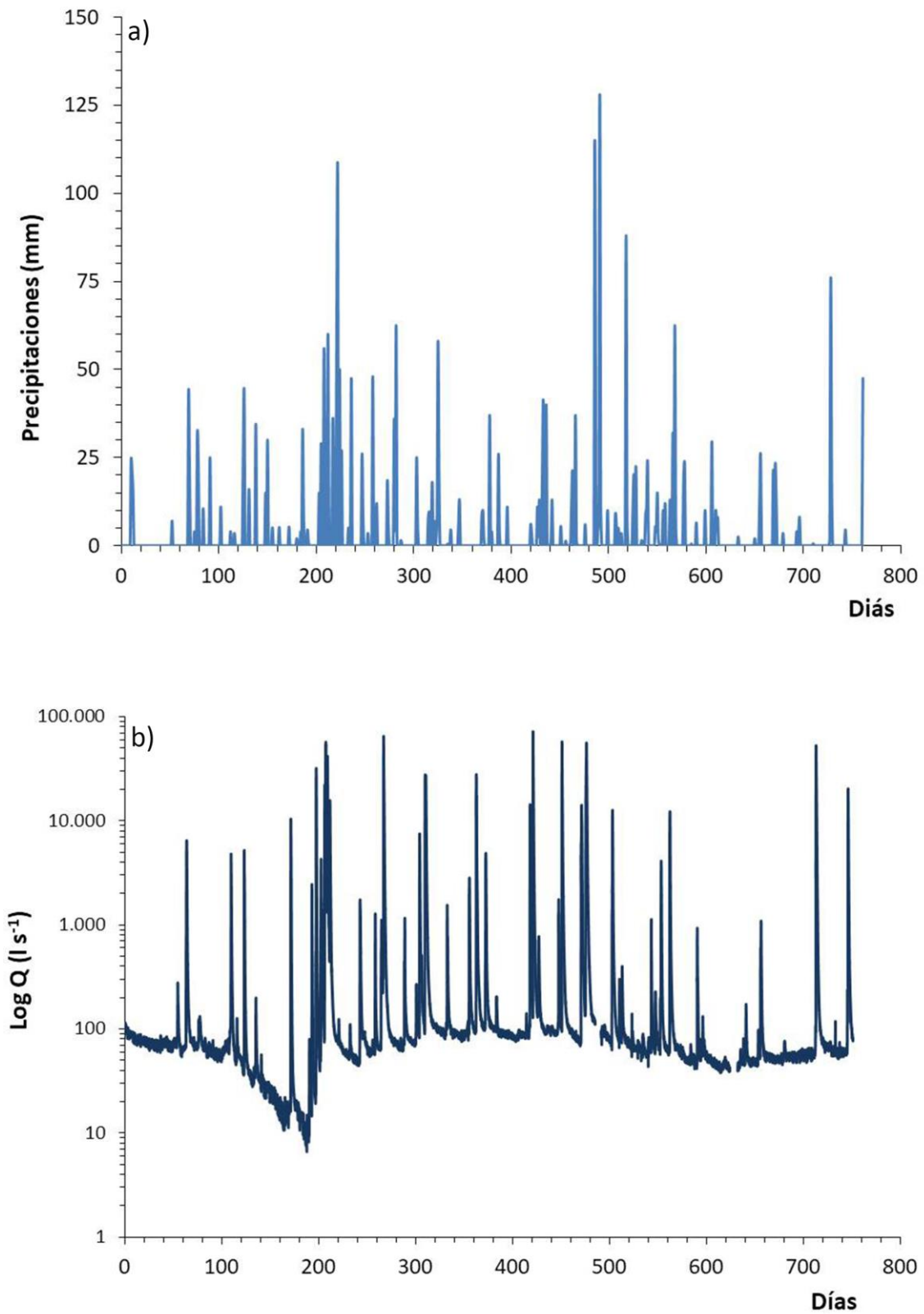


Fig. 10: a) Evolución temporal de la precipitación y b) Evolución temporal del caudal para el periodo de muestreo (julio 2013 - agosto 2015).

El nivel del agua subterránea fue en todo momento (tanto en condiciones basales como de crecida) mayor que el nivel del agua del arroyo. (Fig. 11a). El gradiente hidráulico entre el acuífero y el arroyo fue siempre positivo indicando que hay un aporte permanente desde el acuífero al arroyo (gradiente promedio = $0,146 \pm 0,000$ y la mediana = $0,149$) (Fig. 11b).

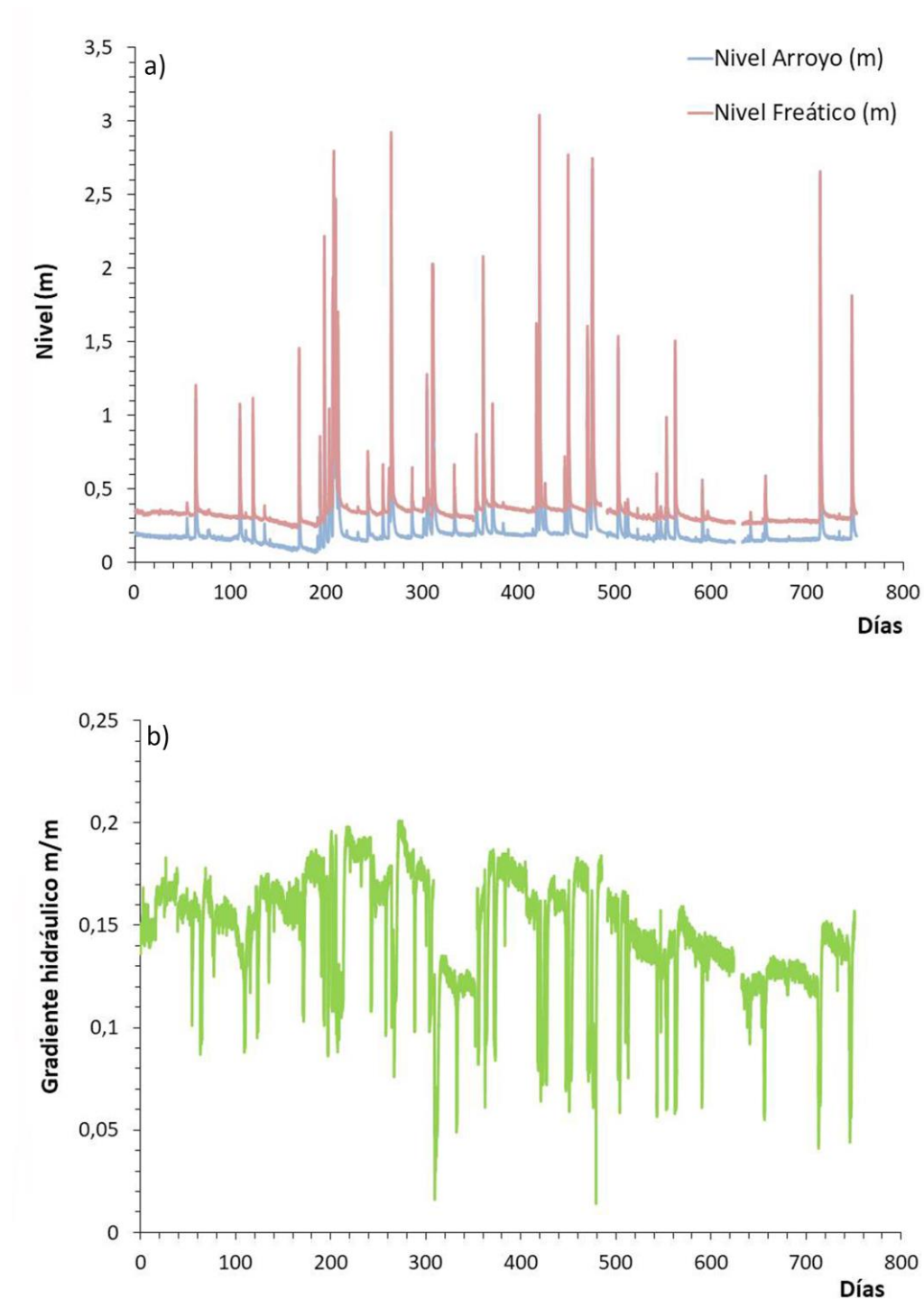


Fig. 11: a) Evolución temporal del nivel del arroyo y el freático (medido en m) y b) Evolución temporal del gradiente hidráulico para el periodo de muestreo (julio 2013 - agosto 2015).

A partir de las gráficas de frecuencias, se observa que el 78 % del tiempo el gradiente hidráulico varió entre 0,14 y 0,18 m, mientras que sólo el 6 % del tiempo la diferencia de nivel fue inferior a 0,1 m (Fig. 12b). Durante el pico de los eventos de tormenta, el nivel de diferencia entre el arroyo y el freático, se redujo a 0,05 m o menos, pero nunca se invirtió (Fig. 10b y 11a), lo que sugiere que incluso en condiciones de alto caudal, el agua del arroyo no recarga las aguas subterráneas circundantes. En consecuencia, la contribución del caudal fluvial al agua subterránea es insignificante en el tramo de estudio. No obstante, la magnitud del flujo de la capa freática al arroyo puede variar aproximadamente tres veces entre las condiciones basales y los eventos de crecida, teniendo en cuenta que durante los períodos de recesión el gradiente fue superior a 0,15 y durante las crecidas alrededor de 0,05.

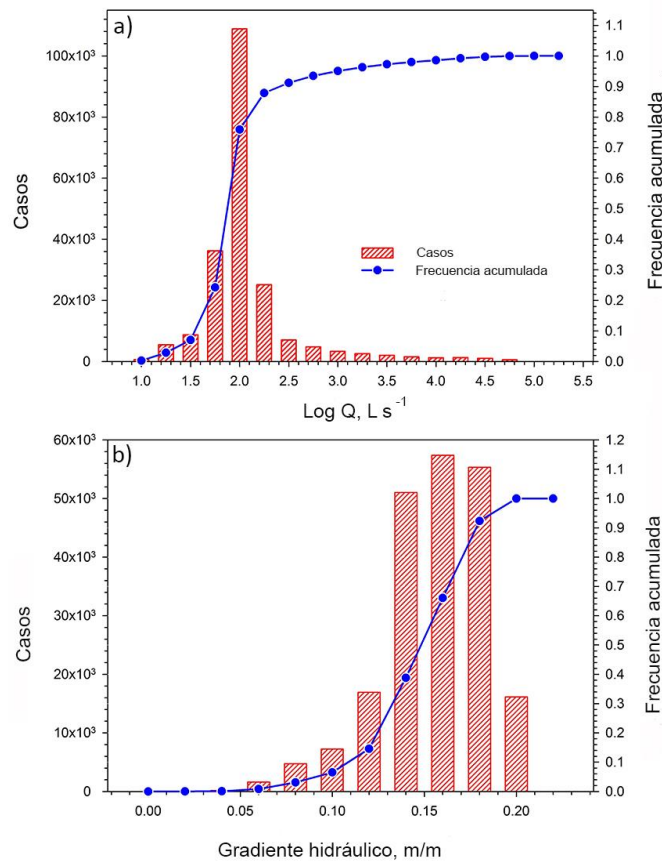


Fig. 12: Gráficos de frecuencia acumulada e Histograma a) del log Q (unidades originales l s⁻¹) y b) del gradiente hidráulico.

Discusión

El análisis del hidrograma muestra que en condiciones basales el nivel del freático estuvo siempre por encima del nivel del arroyo, lo que indica que en el tramo de estudio el caudal del arroyo es mantenido principalmente por el aporte del agua subterránea. Como se verá más adelante, la contribución relativa del freático al caudal del arroyo calculado mediante el balance de masas apoya este hecho.

Los valores positivos para el gradiente hidráulico indican que existe un flujo unidireccional entre el arroyo y el freático, sugiriendo que no existe una verdadera zona hiporreica en el arroyo debido a la falta de intercambio entre aguas superficiales y subterráneas. Por definición los flujos hiporreicos, abandonan y retornan al arroyo varias veces a lo largo del tramo fluvial, mientras que los flujos de agua subterránea (freático) entran o salen del cauce del arroyo, solo una vez a lo largo del tramo (Harvey & Wagner, 2000). La importancia del flujo de agua subterránea local para el mantenimiento del caudal en arroyos pampeanos fue previamente reportada en la bibliografía (Sala et al., 1983; Arreghini et al., 2007). Sin embargo, hasta donde sabemos éste es el primer estudio realizado en la región pampeana en el cual los niveles del agua subterránea y del arroyo han sido monitoreados continuamente *in situ*, permitiendo establecer la diferencia entre ambos niveles.

El hidrograma del arroyo mostró fuertes aumentos del caudal durante los eventos de tormenta. Los incrementos en el nivel del arroyo debido a las precipitaciones parecieran estar seguidos casi instantáneamente por el nivel del agua subterránea, contrariamente a lo observado en estudios previos, donde los aumentos de nivel en el arroyo fueron acompañados por un aumento de nivel del agua subterránea aunque con un cierto retraso de tiempo (Lewandowsk et al., 2009). La elevación casi instantánea del nivel del agua subterránea en respuesta al aumento en el nivel del arroyo observada en el arroyo Las Flores puede deberse a un fenómeno que ocasionalmente se detecta en los piezómetros.

Durante la lluvia los poros superficiales del suelos se sellan, de modo que el agua que se infiltra comprime en aire subyacente, provocando el aumento de la presión en la zona de aireación (Todd & Mays, 2005). Esto causa una elevación de la capa freática que ocurre sólo en el piezómetro y que no representa un ingreso verdadero desde las aguas superficiales a las subterráneas.

Capítulo 6 - Caracterización y cambios cualitativos de la MOD en relación a las condiciones hidrológicas

Estos resultados han sido publicados en *Hydrobiología* como:

Messetta ML, Hegoburu C, Casas-Ruiz JP, Butturini A y Feijoó C. "Characterization and qualitative changes in chemical DOM characteristics related to hydrologic conditions".

DOI 10.1007/s10750-017-3422-x

Introducción

La dinámica temporal de la MOD suele regirse por el régimen hidrológico (Butturini et al., 2005; Neal et al., 2005). La composición del agua de un arroyo está influenciada por diversos factores, entre los que se incluyen el caudal, la escorrentía desde la ribera, el uso de suelo predominante y la actividad metabólica de los organismos en el cauce (Arreghini et al., 2005). Si bien en los arroyos pampeanos los caudales suelen ser bajos, son frecuentes los eventos de crecida durante los cuales el caudal del arroyo puede incrementarse varias veces en cortos periodos de tiempo (Vilches et al., 2014; Rodríguez Castro et al., 2015). En relación a esto, estudios anteriores han reportado un aumento en la concentración de MOD debido al incremento de materiales alóctonos que ingresan desde la zona ripariana durante las crecidas (Serrano, 1992; Bernal et al., 2002; Vilches et al., 2014). Por otro lado, se ha observado también un incremento en la concentración de MOD durante los periodos de sequía debido a una acumulación de materia orgánica en el lecho de los arroyos (como hojas y ramas) provenientes de la vegetación ripariana y a los procesos de producción autóctona (Romaní et al., 2006; Ylla et al., 2010). Si bien la concentración de MOD aumenta en ambas condiciones hidrológicas (crecidas y sequías), su composición química es

diferente. Ejarque-Gonzalez (2014), reportó cambios en la composición química de la MOD, la cual paso de tener una composición en la que predominan las fracciones proteicas (durante condiciones basales o de sequía) a una composición en la cual predominaban las fracciones húmicas durante las crecidas. El aumento en la concentración de MOD con el incremento de caudal, durante los eventos de crecida ha sido mencionado reiteradas veces en la bibliografía referente al tema (Butturini & Sabater, 2000; Bernal et al., 2002; Arreghini et al., 2005). El estudio de las principales fuentes (o “end members”) que aportan al arroyo, conjuntamente con el análisis de los cambios de la MOD con el caudal en arroyos pampeanos puede ayudar a entender el origen y transformaciones de la MOD en arroyos no forestados y altamente productivos como son estos sistemas fluviales.

Nuestra hipótesis es: los eventos de crecida afectan la composición química y la dinámica (transporte, transformación y retención) de la MOD en el tramo estudiado en relación a las condiciones basales

Metodología

Como ya fue mencionado en el capítulo 3, el trabajo de campo se llevó a cabo en el arroyo Las Flores, situado al noreste de la provincia de Buenos Aires (ver Fig. 1 en capítulo 4).

Se realizaron 18 muestreos, cuya periodicidad varió en función de las condiciones climáticas. Los muestreos se realizaron entre septiembre de 2013 y agosto de 2015, bajo distintas condiciones hidrológicas. Se colectaron muestras de agua en el arroyo (A), sus tributarios (B₁ y B₂) y en los distintos “end members” (F, E_{SUP}; E_{SUB} y LI). Además se llevó a cabo el seguimiento de tres eventos de precipitación en mayo de 2014, en enero y en julio de 2015. El diseño de muestreo se describe en detalle en el capítulo 4. Las muestras para el análisis de las propiedades ópticas de la MOD fueron tratadas según la metodología detallada en el capítulo 4.

Tratamiento de los datos

Los datos son reportados como media \pm error estándar para todas las variables. Las diferencias entre las variables se testearon aplicando una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, debido a que las variables no se ajustaban a una distribución normal, aún luego de ser transformadas logarítmicamente. Aplicamos la prueba de correlación de Spearman para analizar la relación entre las variables. Luego analizamos la manera en la cual las variables correlacionadas se relacionaban entre sí. El modelo que mejor describió la relación entre la concentración de COD y los índices espectroscópicos y fluorimétricos con el caudal (Q), fue el modelo potencial ($C=aQ^b$) (Godsey et al., 2009, Moatar et al., 2017). Las relaciones se consideraron significativas para un $p < 0,05$.

Resultados

Caracterización fisicoquímica del arroyo y los “end members”

Con respecto a los parámetros fisicoquímicos, observamos que los valores de temperatura fueron similares en el arroyo y los “end members” (Test de Kruskal-Wallis, $p = 0,7909$). El pH varió de 7,4 a 8,02, y los valores para el arroyo y sus tributarios (B_1 y B_2) fueron similares entre sí, pero difirieron del resto de los “end members” (E_{SUB} , E_{SUP} , F y L1) (Test de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$). Los valores más altos de OD se observaron en las muestras de L1 (9 mg l^{-1}) y los más bajos en las muestras de escorrentía (E_{SUP} y E_{SUB} , $\sim 5 \text{ mg l}^{-1}$), siendo la concentración de OD similar en A y el resto de los “end members” (Test de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$). Con respecto a la EC, los valores más bajos se observaron en las muestras de L1 ($33 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$) y los más altos en las muestras de F ($700 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$). El arroyo, sus tributarios y el resto de los “end members”, presentaron valores intermedios (Test de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Tabla 3).

Tabla 3: Parámetros fisicoquímicos para el arroyo y los distintos "end members", expresados como media \pm EE.

"End member"	N	DO (mg l^{-1})		EC ($\mu\text{S cm}^{-1}$)		T ($^{\circ}\text{C}$)		pH	
		Media	\pm EE	Media	\pm EE	Media	\pm EE	Media	\pm EE
A	18	7,13	($\pm 0,39$)	574,69	($\pm 55,95$)	17,87	($\pm 0,97$)	7,82	($\pm 0,1$)
B1	18	7,8	($\pm 0,39$)	466,27	($\pm 62,99$)	18,51	($\pm 1,22$)	7,92	($\pm 0,09$)
B2	18	7,33	($\pm 0,42$)	674,98	($\pm 54,7$)	17,21	($\pm 0,96$)	8,02	($\pm 0,05$)
ESUB	8	5,67	($\pm 0,89$)	201,81	($\pm 39,64$)	16,11	($\pm 1,35$)	7,08	($\pm 0,19$)
ESUP	10	5,2	($\pm 0,86$)	124,18	($\pm 18,56$)	17,99	($\pm 2,01$)	7,37	($\pm 0,14$)
F	18	7,63	($\pm 0,17$)	770,56	($\pm 3,54$)	18,2	($\pm 0,37$)	7,67	($\pm 0,02$)
Ll	11	9,87	($\pm 0,36$)	33,75	($\pm 8,19$)	19,02	($\pm 1,47$)	7,4	($\pm 0,48$)

Caracterización química de la MOD

La concentración de COD fue mayor en las muestras de escorrentía (E_{SUP} y E_{SUB}) y menor en las muestras de F y Ll. Los valores de concentración de COD en el arroyo y sus tributarios fueron similares entre sí (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Fig. 13).

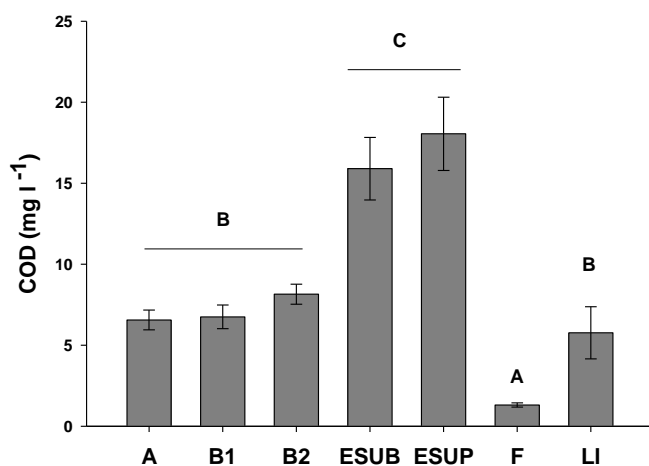


Fig. 13: Concentración de COD para el A y sus "end members". (donde A: arroyo, B₁: Brazo 1, B₂: Brazo 2, ESUB: escorrentía subsuperficial, ESUP: escorrentía superficial, F: freático y Ll: lluvia).

El SUVA, que indica el contenido de aromaticidad, no varió entre el A y sus "end members", excepto en las muestras de Ll en las que se observaron los valores más bajos (test de Kruskal-Wallis $p < 0,0001$) (Fig. 14). La pendiente espectral S_R , resultó ser mayor en las

muestras de F y Ll, mientras que no se observaron diferencias en los valores de S_R entre el A y el resto de los “end members” (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$) (Fig. 14).

La contribución de los picos húmicos (picos A, C y M) a la fluorescencia total, fue mayor en A, B₁, B₂ y en las muestras de escorrentía (E_{SUP} y E_{SUB}), con el pico A contribuyendo casi un 40 %, y los otros picos representando un 20 % cada uno. Por el contrario, los picos B y T, relacionados con los compuestos proteicos, mostraron una contribución mayor en las muestras de F y Ll (~20%), mientras que no se observaron diferencias entre los otros “end members” (test de Kruskal-Wallis, $p < 0.0001$) (Tabla 4). Si bien en el F se observaron las intensidades de fluorescencia más bajas en relación al resto de los “end members”, la contribución de los picos relacionados a los compuestos proteicos fue más elevada en F que en los otros “end members” (Tabla 4).

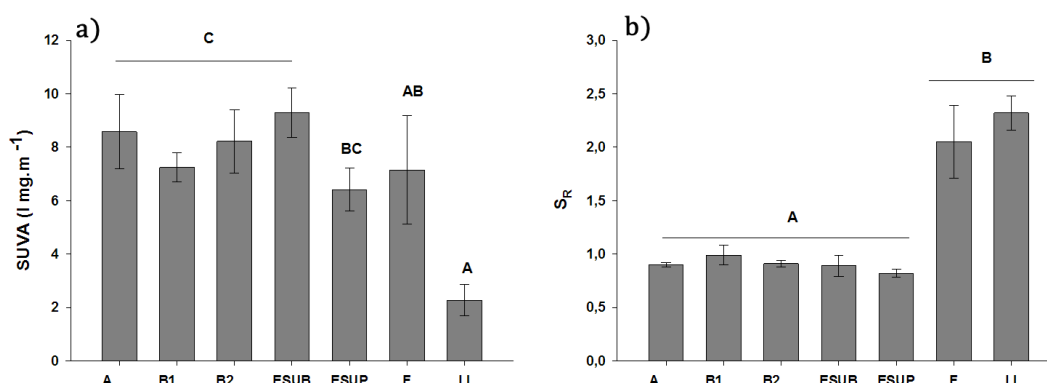


Fig. 14: a) absorbancia específica a 254 (SUVA) y b) Slope ratio (S_R) para el A y sus “end members”. (donde A: arroyo, B₁: Brazo 1, B₂: Brazo 2, ESUB: escorrentía subsuperficial, ESUP: escorrentía superficial, F: freático y Ll: lluvias).

Tabla 4: Principales picos de fluorescencia, expresados como media \pm EE, para los para el A y sus “end members”. Los picos de fluorescencia se reportan como contribución porcentual de cada pico, calculado como el cociente entre la fluorescencia total y la fluorescencia de cada pico

"End member"	Pico A %			Pico C %		Pico M %		Pico B %		Pico T %	
	N	Media	\pm EE	Media	\pm EE	Media	\pm EE	Media	\pm EE	Media	\pm EE
A	19	38,22	1,62	18,77	0,78	19,88	0,45	9,11	1,22	14,02	1,62
B1	17	38,17	1,41	18,31	0,78	19,76	0,82	9,6	1,4	14,16	1,44
B2	18	38,89	1,27	19,4	0,69	20,12	0,55	8,14	1,23	13,46	1,27
ESUB	8	36,14	3,97	19,63	1,58	24,17	3,02	8,1	1,99	11,96	1,32
ESUP	9	39,53	1,03	21,21	0,57	21,47	0,5	6,79	1,28	11	0,71
F	18	26,74	1,36	12,43	0,57	16,76	1,35	20,69	1,59	23,38	1,64
Ll	10	22,91	1,76	12,2	0,78	16,23	0,93	22,28	1,77	26,38	2,31

Con respecto a los índices fluorimétricos, observamos que los “end members” pueden ser separados en dos grupos de acuerdo al HIX; las muestras de F y Ll con los valores más bajos y significativamente diferentes, y el resto de los “end member” con los valores más altos los cuales no difirieron entre sí (test de Kruskal-Wallis, $p < 0.0001$). El BIX y el FI mostraron un patrón opuesto al observado para el HIX, con los valores más altos en F y Ll (test de Kruskal-Wallis, $p < 0.0001$) (Fig. 15).

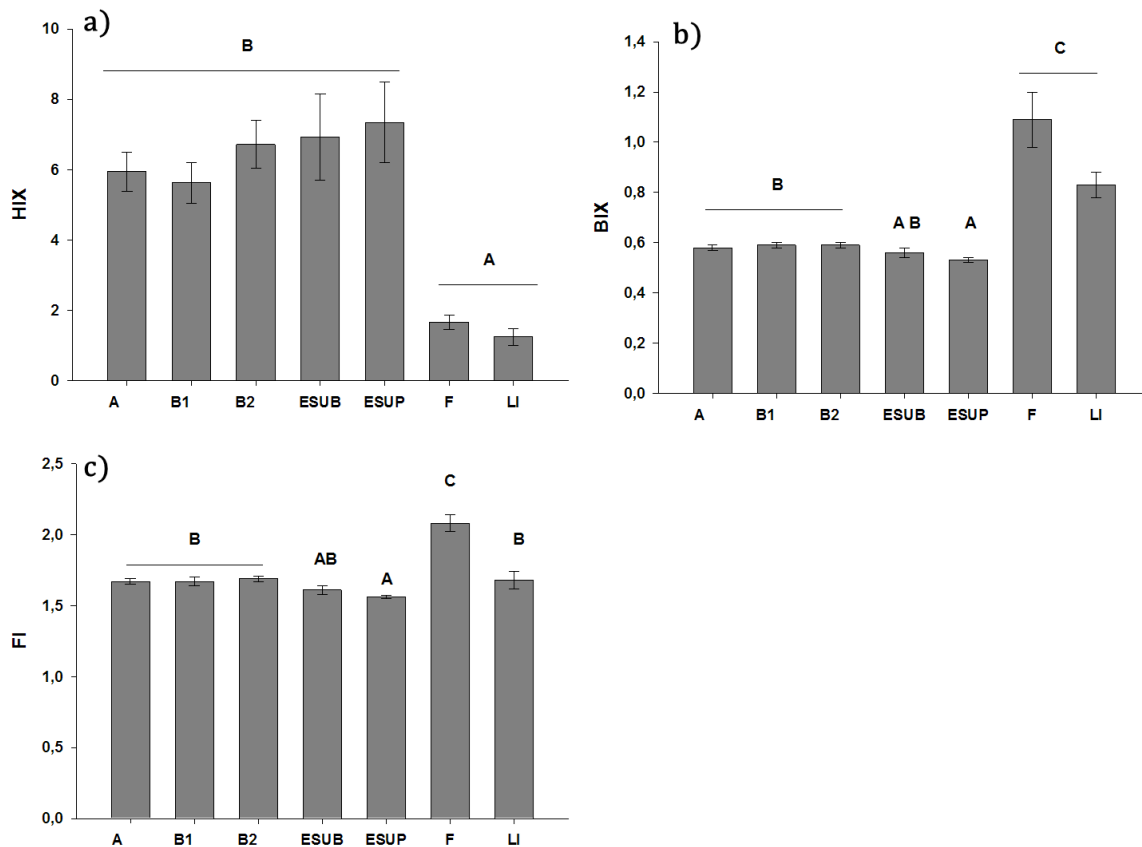


Fig. 15: a) Índice de humificación (HIX), b) Índice biológico (BIX) y c) Índice de fluorescencia (Fi) para el A y sus “end members” (donde A: arroyo, B₁: Brazo 1, B₂: Brazo 2, ESUB: escorrentía subsuperficial, ESUP: escorrentía superficial, F: freático y Ll: lluvias).

Caracterización hidrológica y cambios en la MOD con el caudal

Durante el periodo de muestreo el caudal fue altamente variable, con un caudal medio de 240 l s⁻¹, el cual varió entre 23 l s⁻¹ en condiciones basales y 1451 l s⁻¹ con caudal alto (ver capítulo 5). Con respecto a los tributarios, el caudal del B₁ fue mayor que el caudal del B₂ (89 ± 1,84 l s⁻¹ y 64 ± 1,4 l s⁻¹, respectivamente). La concentración de COD aumentó con el caudal siguiendo un modelo potencial (R²= 0,56; p = 0,0005) y la misma tendencia se observó en los B₁ y B₂ (R²= 0,50; p = 0,0013 y R² = 0,21; p = 0,0408, respectivamente) (Fig. 16).

No observamos relaciones significativas entre el SUVA y el S_R con el caudal, a excepción del B_1 , en el cual el SUVA aumenta al aumentar el caudal ($R^2= 0,41$; $p= 0,0047$). Los picos de los fluoróforos relacionados con los compuestos húmicos (pico A, C y M) aumentaron con el aumento de caudal tanto en las muestras de A (*pico A*: $R^2= 0,44$ y $p = 0,0032$; *pico C*: $R^2= 0,40$ y $p = 0,0052$; *pico M*: $R^2= 0,21$ y $p = 0,0431$) como en las muestras de B_1 (*pico A*: $R^2=0,26$ y $p =0,0245$; *pico C*: $R^2=0,30$ y $p=0,0169$; *pico M*: $R^2=0,28$ y $p =0,0207$, Tabla 5), mientras que no se observaron relaciones significativas entre estos fluoróforos y el caudal en B_2 . Tampoco se observaron relaciones significativas entre los picos proteicos (picos B y T), ni en el A ni en sus tributarios.

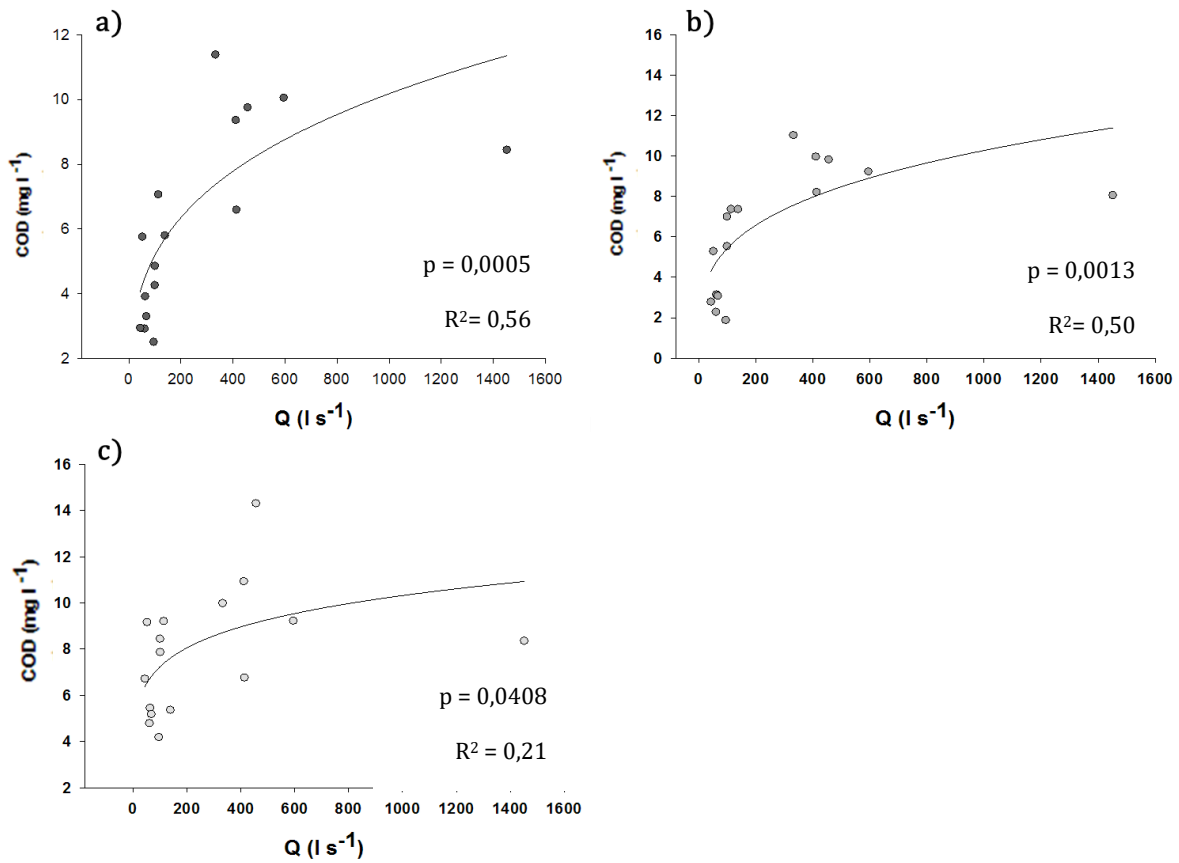


Fig. 16: Relación entre la concentración de COD (mg l⁻¹) y el Q (l s⁻¹) para el a) A, b) B₁ y c) B₂

El HIX aumento con el caudal ($R^2 = 0,24$ y $p = 0,0304$) en A, pero no se observaron relaciones entre el HIX y el caudal en los tributarios (B_1 y B_2). Contrariamente a lo observado para el HIX, el BIX y FI disminuyeron con el incremento de caudal en A ($R^2= 0,41$ y $p = 0,0046$; $R^2= 0,36$ y $p = 0,0078$ respectivamente; Tabla 5). La misma tendencia se observó en el B_1 ($R^2= 0,52$ y $p = 0,0009$; $R^2=0,30$ y $p = 0,0166$ respectivamente, Tabla 5). Si bien el FI disminuyó con el incremento del caudal en el B_2 ($R^2 = 0,45$ y $p= 0,0018$), no se hallaron relaciones significativas entre el BIX y el caudal. Las mayores pendientes de las relaciones entre los picos húmicos (picos A y C) y el caudal indican que estos picos tienen una mayor respuesta a los cambios en el caudal que los otros índices (Tabla 5).

Tabla 5: Relación entre el caudal (expresado como log) y distintos índices ópticos en el A y los dos tributarios (B_1 y B_2). Se indican el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (R^2), la pendiente (b), el nivel de significancia y el número de casos. NR, indica no relación entre las variables

End member	HIX	BIX	FI	Peak A	Peak C	Peak M
A	r=0,64 $R^2=0,24$ b=0,20 p=0,034 N=19	r= -0,52 $R^2=0,41$ b= -0,047 p=0,0046 N=19	r= -0,68 $R^2= 0,36$ b= -0,03 p=0,0008 N=19	r=0,83 $R^2=0,47$ b=0,32 p=0,0021 N=19	r=0,84 $R^2=0,465$ b= 0,31 p=0,0023 N=19	r=0,77 $R^2= 0,36$ b= 0,27 p=0,008 N=19
B1	NR	r= -0,79 $R^2=0,52$ b= -0,046 p=0,0009 N=17	r = -0,75 $R^2= 0,30$ b= -0,034 p=0,016 N=17	r=0,62 $R^2=0,26$ b=0,16 p=0,0025 N=17	r=0,61 $R^2=0,30$ b=0,17 p=0,018 N=17	r=0,63 $R^2= 0,28$ b=0,16 p=0,021 N=17
B2	NR	NR	r = -0,80 $R^2= 0,45$ b= -0,029 p=0,0019 N=18	NR	NR	NR

Cambios en la composición química de la MOD durante los eventos de precipitación

Durante los eventos de precipitación, el caudal basal del arroyo se incrementó entre 2 y 300 veces, mientras que la altura aumentó 10 veces (entre 0,19 y 2,0 m de altura) (Tabla 2, capítulo 5).

Si bien la concentración de COD aumenta durante los eventos de precipitación, no se observaron relaciones significativas entre la concentración de COD y el caudal ni patrones de histéresis. Tanto el SUVA como el HIX se incrementaron con el caudal, ($R^2=0,50$ y $p=0,0013$; $R^2=0,53$ y $p=0,0009$, respectivamente) en el evento de mayo y en el evento de julio ($R^2=0,80$ y $p=0,0001$; $R^2=0,43$ y $p=0,0046$, Fig. 17). Sin embargo no se observaron relaciones entre estos índices y el caudal para el evento de enero. El BIX, FI y S_R resultaron ser independientes del incremento de caudal en los tres eventos muestreados. Se observó además que los picos relacionados a las sustancias húmicas (picos A, C y M) aumentaron con el caudal tanto en el evento de mayo (*pico A*: $R^2=0,52$ y $p=0,0009$; *pico C*: $R^2=0,52$ y $p=0,0010$; *pico M*: $R^2=0,52$ y $p=0,0010$) como en el evento de julio (*pico A*: $R^2=0,76$ y $p<0,0001$; *pico C*: $R^2=0,81$ y $p<0,0001$; *pico M*: $R^2=0,7809$ y $p<0,0001$; Fig. 18), pero no se encontraron relaciones entre los picos húmicos y el caudal para el evento de enero. Observamos que la pendiente de la relación entre los picos A y C (húmicos) y el caudal para el evento de julio fue mayor, lo que indica que la respuesta de esos picos a los cambios de caudal es mayor que la de los otros índices. También observamos que en el evento de mayo, las pendientes de la relación entre los picos húmicos y el caudal fueron similares a las pendientes de la relación entre el HIX y el S_R con el caudal, lo que indica que estos parámetros muestran una respuesta similar a los cambios de caudal.

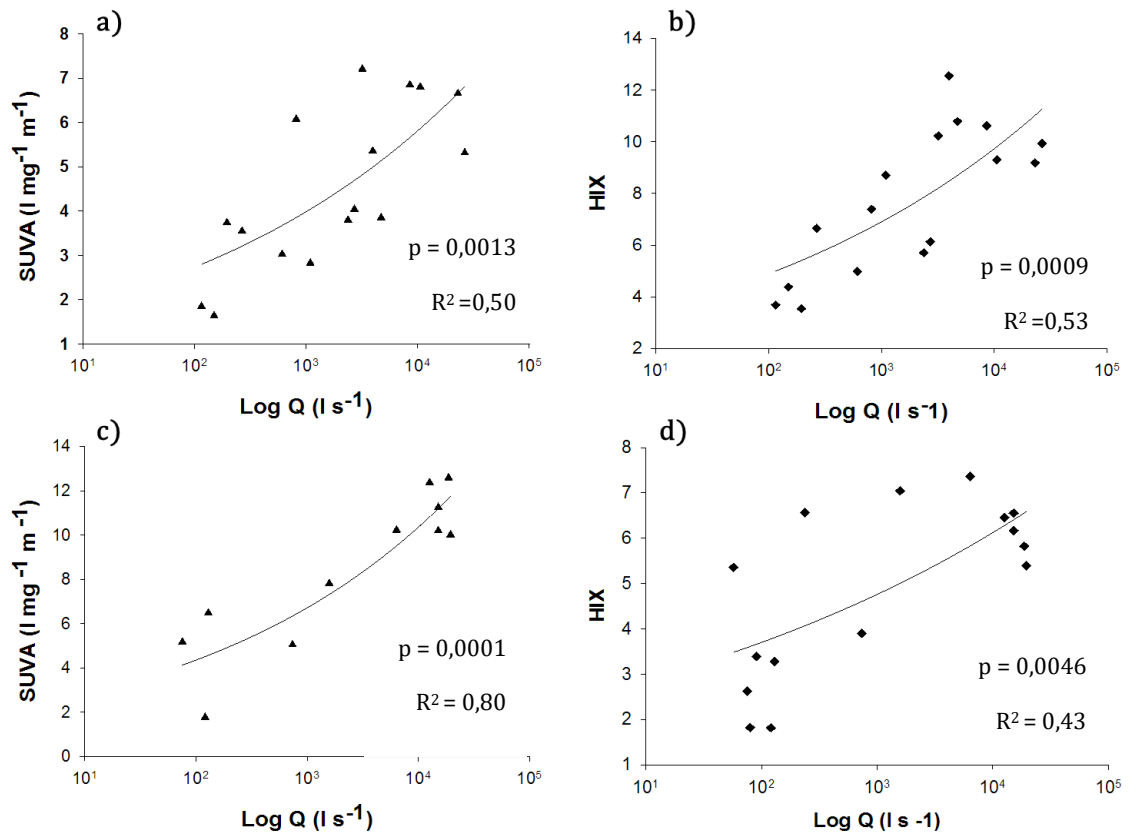


Fig. 17: Relaciones entre SUVA e HIX con el Q (l s⁻¹) para el evento de mayo (a y b) y para el evento de julio (c y d)

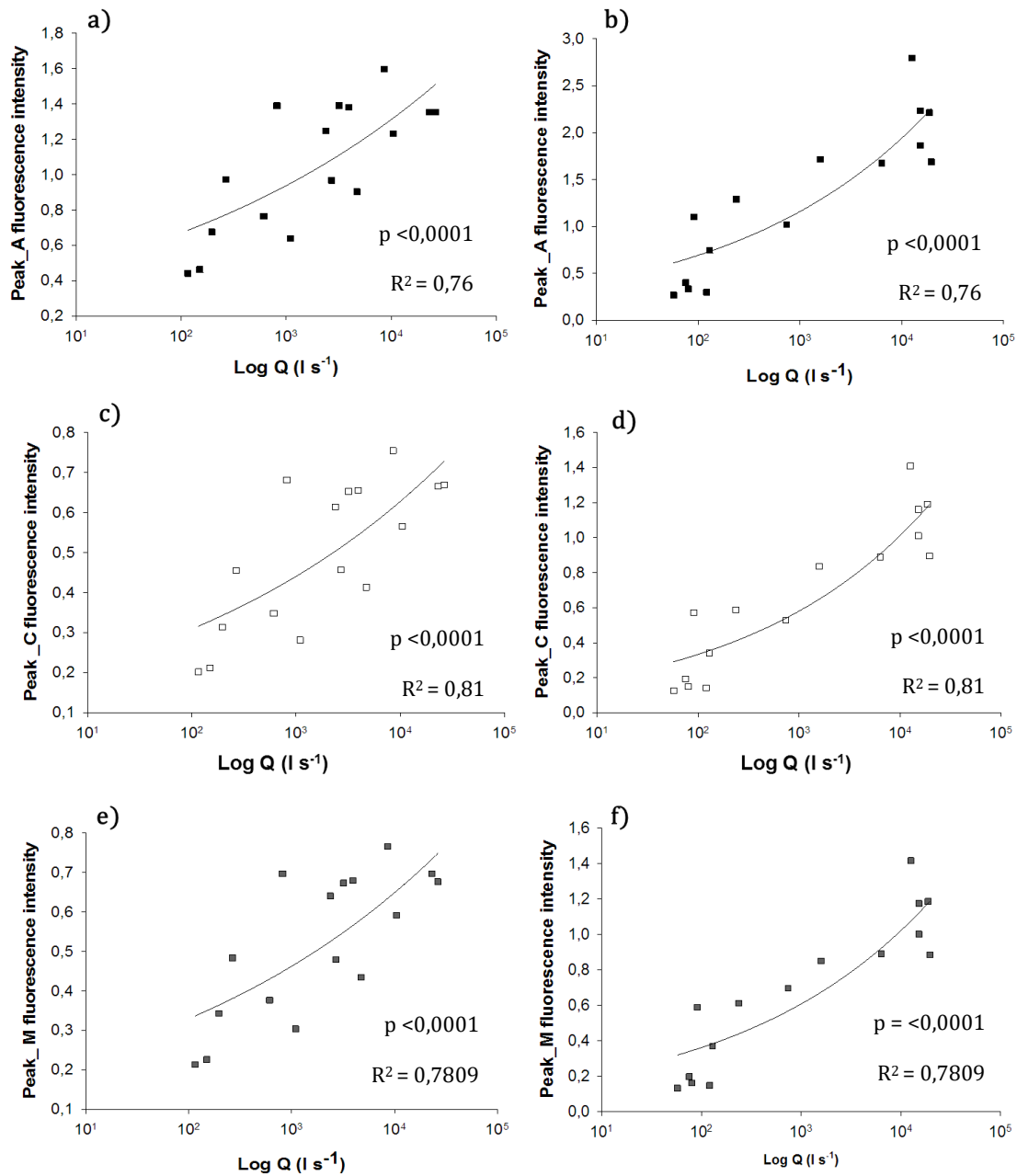


Fig. 18: Relaciones entre los picos A, C y M con el Q (l s⁻¹) para el evento de mayo a la izquierda y para el evento de julio a la derecha.

Discusión

Caracterización química de la MOD del arroyo y los “end members”

La integración de técnicas de espectroscopía con monitoreos hidro-biogeoquímicos durante condiciones hidrológicas extremas (como las crecidas) permite comprender desde una perspectiva más amplia la heterogeneidad en la composición de la MOD (Hood et al., 2006; Vidon et al., 2008). Nuestros resultados indican que las propiedades ópticas de la MOD del arroyo pueden asociarse a la contribución relativa de los diferentes “end members” al caudal del arroyo. En esta tesis encontramos que la MOD del arroyo presenta valores de FI que pueden resultar tanto de la liberación de materiales derivados de la actividad de los microorganismos o derivados del material vegetal, lo que concuerda con lo reportado previamente por Vázquez et al. (2011). El BIX y el HIX sugieren que se trata de un material humificado más degradado, que consiste en compuestos aromáticos y de alto peso molecular, como también lo indican los valores de SUVA y S_R . La contribución predominante del pico A y la importante contribución del pico C a la fluorescencia total, sugieren también la presencia de MOD de origen terrestre de alto peso molecular. Los picos M y T contribuyeron a la fluorescencia total, aunque en menor medida. Como se mencionó anteriormente, el pico T está relacionado con materiales similares a proteínas, mientras que el pico M se asocia comúnmente a MOD de bajo peso molecular, derivado de una fuente mezclada terrígena, autóctona y reelaborada microbiológicamente (Fellman et al., 2010; Stubbins et al., 2014). Es posible que el pico M sea indicativo de MOD derivada de las macrófitas, abundantes en el arroyo Las Flores (Catalán et al., 2013).

La concentración de COD en el agua subterránea (F) fue menor que en el arroyo y sus tributarios (B_1 y B_2). Nuestros resultados coinciden con trabajos anteriores que en los que se reportaron bajas concentraciones de COD en el agua subterránea en relación al agua superficial (Inamdar et al., 2012, Vázquez et al., 2007, Sachse et al., 2005) posiblemente

debido a la adsorción de las moléculas de la MOD a la superficie mineral, a medida que la MOD se infiltra a través del suelo (Inamdar et al., 2012, Qualls & Haines, 1991). Con respecto a la características ópticas de la MOD, los altos valores de los índices S_R , BIX y FI, así como la predominancia de los picos (mayor contribución a la fluorescencia total) en el freático B y T sugieren que la MOD en el agua subterránea tiene un origen autóctono y consiste en compuestos de bajo peso molecular y bajo contenido de carbono aromático, lo que sugiere un origen microbiano de la MOD en este “end member”. Resultados similares fueron reportados en estudios previos en arroyos del hemisferio norte, en los que encontraron altos valores del FI y bajos de HIX e intensidades de fluorescencia del pico B más altas en el agua subterránea que en el arroyo (Vázquez et al., 2011; Vázquez et al., 2007; Romaní et al., 2006; Hood et al., 2006). Nuestros resultados sugieren que la MOD en el agua subterránea deriva principalmente de la actividad microbiana dentro del acuífero, posiblemente debida a la degradación de la materia orgánica de los suelos antiguos (Fellman et al., 2014). El origen autóctono de la MOD en el agua subterránea también fue reportado por otros autores (Inamdar et al., 2012). Observamos además que el SUVA presentó valores intermedios y que el pico A fue el contribuyente más importante a la fluorescencia total en muestras de F. Por este motivo, no podemos descartar que los materiales húmicos de origen terrestre también contribuyen a la MOD del agua subterránea (Coble et al., 2014).

Por otra parte la MOD en las muestras de escorrentía (E_{SUP} y E_{SUB}) deriva del material vegetal y la materia orgánica presente en el suelo, como lo indican los altos valores del HIX y bajos valores de los índices FI y BIX. Además los altos valores del SUVA y bajos valores de S_R , indican que la MOD consiste en compuestos con un elevado contenido de compuestos aromáticos y alto peso molecular (Helms et al., 2008). También observamos un aumento en la concentración de COD, HIX, y en la intensidad de fluorescencia de picos de tipo húmico con el aumento del caudal, lo que indica una entrada de MOD alóctono durante los eventos de precipitación. En concordancia con nuestros resultados, Inamdar et

al. (2012) encontraron altos valores de HIX y SUVA en los lixiviados de suelo y agua del suelo. Del mismo modo, Hood et al. (2006) y Vidon et al. (2008) demostraron que durante los eventos de precipitación, la MOD que ingresa a través de la escorrentía superficial tiene altos valores de SUVA.

Encontramos que la concentración de COD en muestras de agua de lluvia fue alta, aunque dentro del rango reportado en estudios previos. Por ejemplo, Liu & Sheu (2003) encontraron que la concentración de COD en el agua de precipitación fue de 4,7 mg l⁻¹, mientras que Siudek et al. (2015) observaron 5,10 ± 7,46 mg l⁻¹ en un lugar urbano y 4,72 ± 4,21 mg l⁻¹ en una zona boscosa. Los altos valores de COD observados en nuestro estudio se deben probablemente al predominio de vientos débiles, lo que conduce al enriquecimiento de material orgánico en la atmósfera, con formación secundaria de carbono orgánico y aumento de MOD en las muestras de lluvia (Santos et al., 2009). Esto también podría explicar la presencia de componentes húmicos y de tipo proteico en las muestras de lluvia (Kieber et al., 2006; Muller et al., 2008). A pesar de los altos niveles de COD, la lluvia no es una fuente de COD relevante para el arroyo, ya que la contribución del agua de lluvia al caudal del arroyo es despreciable (esto surge de los balances de masas que se presentarán en el siguiente capítulo).

Caracterización hidrológica y cambios en la MOD con el caudal

En este estudio encontramos que la concentración de COD en el arroyo aumentó con el aumento del caudal. Los resultados de este trabajo concuerdan con investigaciones anteriores realizadas en arroyos del hemisferio norte, en los que se reportó un incremento en la concentración de COD con el incremento de caudal (Buffam et al., 2001; Bernal et al., 2002; Butturini et al., 2006; Vidon et al., 2008; Raymond & Saiers, 2010; Guarch-Ribot & Butturini, 2016). Observamos que la relación entre la concentración de COD y el caudal sigue una función potencial para la que se han propuesto, diferentes explicaciones. Godsey et al. (2009) propusieron que un modelo de mezcla que explica la relación de tipo

potencial entre la concentración y el caudal. Estos autores propusieron que la relación potencial entre la concentración y el caudal es producida por un flujo variable del soluto (que es proporcional al área) y la mezcla de aguas de diferente composición. Bernal et al. (2002) sugirieron que el COD se acumula en los suelos durante los periodos de sequía y que éste COD puede lixiviar durante los eventos de tormentas, incrementando la concentración de COD en el agua del arroyo. Vidon et al. (2008) propusieron que el incremento en la concentración de COD durante los eventos de precipitación se debe a cambios en las fuentes dominantes que aportan COD, desde suelos minerales pobres en sustancias aromáticas en condiciones basales a suelos superficiales ricos en compuestos aromáticos durante las tormentas. Sin embargo, en nuestro estudio el aumento de la concentración de COD con el caudal puede atribuirse a los procesos de lavado y erosión, que liberan la materia orgánica acumulada en el suelo superficial. Estos procesos pueden ser favorecidos por el relieve plano de la región que aumenta el tiempo de contacto entre el agua y el suelo, como se observó en otros arroyos de llanura (Giling et al., 2014). La influencia de los procesos erosivos sobre la concentración de COD ha sido reportada anteriormente en otro arroyo pampeano (Arreghini et al., 2005).

En condiciones basales, la mitad del caudal del arroyo es aportado por el agua subterránea, mientras que la otra mitad es aportada por los tributarios del arroyo (B_1 y B_2), cada uno con una contribución proporcional similar (ver capítulo 7). En condiciones de alto caudal, los “end members” que contribuyeron al caudal del arroyo fueron los mismos (el agua subterránea y los tributarios del arroyo, B_1 y B_2), pero se suma la escorrentía superficial con una contribución proporcional más importante (ver capítulo 7). Además, la contribución del B_1 fue mayor que la del B_2 , y representó casi la mitad del caudal del arroyo. Las diferencias observadas en la contribución relativa de los tributarios (B_1 y B_2) al caudal puede deberse al flujo constante del efluente descargado al B_2 , lo que amortiguaría las respuestas del caudal de B_2 frente a los cambios en las condiciones hidrológicas (ver capítulo 7). Por lo tanto concluimos que los “end member” contribuyen

diferencialmente al caudal del arroyo dependiendo de las condiciones hidrológicas. Nuestros resultados indican que en condiciones basales, cuando el caudal del arroyo es mantenido principalmente por el ingreso de aguas subterráneas, en la MOD predominan una mezcla de compuestos derivados de la actividad biológica (compuestos tipo proteicos) y los derivados del paisaje (sustancias húmicas). Durante los eventos de tormenta se produce un ingreso de MOD rica en compuestos aromáticos y de alto peso molecular desde el paisaje, el cual rápidamente alcanza el arroyo (Vidon et al., 2008). De acuerdo con Vidon et al. (2008), observamos que tanto el HIX como los principales fluoróforos relacionados con los compuestos húmicos (picos A, C y M) se incrementan conjuntamente con el caudal, mientras que el BIX (relacionado con la MOD reciente, derivada de la producción biológica) y el FI (indicador de la fuente de MOD) muestran una relación negativa con el caudal, sugiriendo un cambio en el carácter químico de la MOD desde autóctono hacia un material más humificado (alóctono) durante los eventos de tormenta. Cambios en la composición química de la MOD durante los eventos de tormenta fueron citados anteriormente en la bibliografía. Por ejemplo, Hood et al. (2006) y Vidon et al. (2008) observaron un incremento del SUVA, lo que indica un incremento en la aromaticidad durante los eventos de tormenta. Nuestros resultados concuerdan con lo planteado por estos autores. En este trabajo encontramos que el SUVA aumenta con el aumento del caudal durante los eventos de precipitación. Además, observamos que los valores de SUVA fueron bajos al inicio y al final del evento de precipitación, cuando el arroyo es mantenido principalmente por el aporte del agua subterránea (Hood et al., 2006). La idea de que la MOD en el arroyo cambia en su composición química hacia un mayor contenido de sustancias húmicas durante los eventos de precipitación, es también apoyada por el hecho que tanto el HIX, el SUVA y los picos de fluorescencia relacionados con las sustancias húmicas aumentan a medida que el caudal se incrementa debido a la precipitación.

En general, nuestros resultados indican que en condiciones basales la MOD del arroyo consiste en una mezcla de compuestos de tipo proteico y húmico. Los compuestos de tipo

proteico derivan del agua subterránea y de la producción que ocurre dentro del arroyo. Las fracciones húmicas derivan del lavado del suelo que ocurre durante los eventos de precipitación a través de las escorrentías superficial y subsuperficial. Sin embargo, parte de la fluorescencia debida a las sustancias de tipo húmico podrían originarse a partir de la descomposición de comunidades de macrófitas altamente productivas o de la producción bacteriana. En condiciones de alto caudal, predominan los materiales húmicos derivado del aporte de las escorrentías al caudal.

Recapitulación de la hipótesis

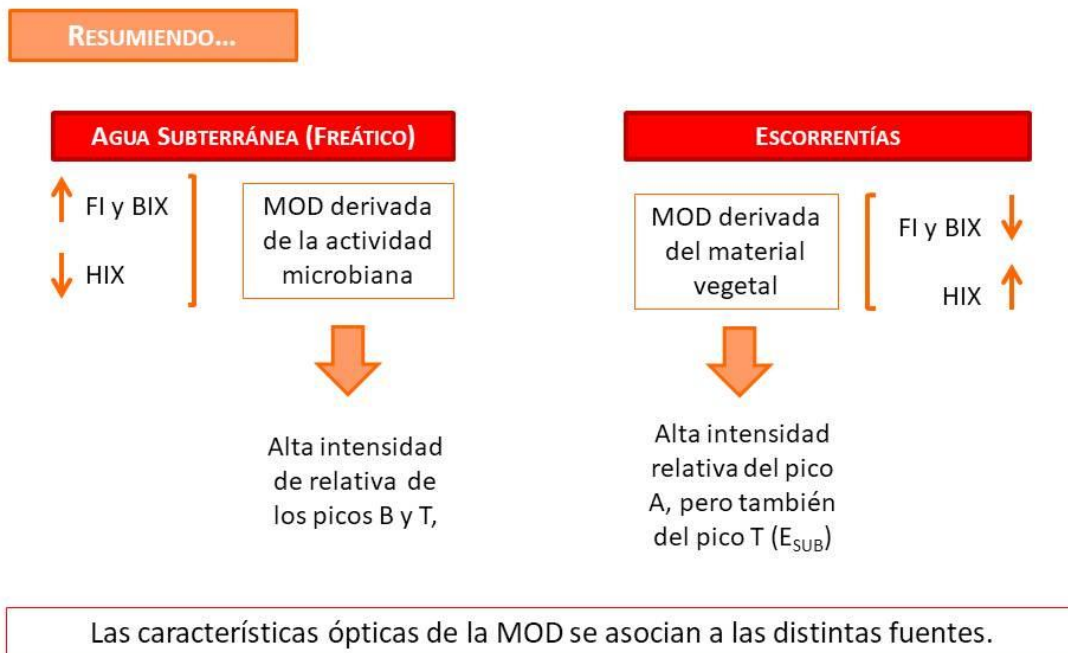
Los eventos de crecida afectan la composición química y la dinámica (transporte, transformación y retención) de la MOD en el tramo estudiado, con relación a las condiciones basales.

A partir de esta hipótesis se desprenden las siguientes predicciones:

1. En condiciones basales, la MOD será principalmente de origen autóctono (debida a la producción biológica y descomposición *in situ*), con aportes menores provenientes del freático, mientras que durante las crecientes la MOD sería mayoritariamente alóctona y de origen terrestre, las cuales serán reflejadas en las características químicas de la MOD.
3. Durante las crecientes, aumentarían los aportes terrestres de MOD alóctona en detrimento de la MOD de origen autóctono, lo que a posteriori produciría cambios en la calidad de la MOD circulante.

Nuestros resultados muestran que la MOD del arroyo deriva del aporte de los distintos “end members” al arroyo. En condiciones basales, la MOD está constituida por materiales derivados de procesos autóctonos que ocurren en el arroyo. Con alto caudal, se incrementan los materiales alóctonos y hay un cambio de las características químicas hacia un predominio en los materiales húmicos. Por lo tanto, nuestros datos apoyan

nuestra hipótesis de trabajo de un cambio en las características químicas de la MOD con las condiciones hidrológicas.



Capítulo 7 - Balance de masas en un tramo del arroyo Las Flores

Introducción

La química del agua de los arroyos depende de las fuentes de escorrentía que contribuyen al caudal del arroyo y de los procesos hidrológicos y biogeoquímicos que operan en el cauce (Hooper et al., 1990; Stream Solute Workshop, 1990). Muchos compuestos disueltos son transportados en el agua pero solo algunos de ellos son biológicamente importantes, como por ejemplo los nutrientes y la MOD (Cole et al., 2007; Mulholland & Webster, 2010). En particular, la MOD aporta los recursos básicos de carbono y energía a los sistemas fluviales (Butturini et al., 2016). La mayor parte de la MOD que circula en los arroyos, deriva del paisaje circundante (Wetzel, 2001, Gordon & Goni, 2003). Sin embargo, los procesos bióticos y abióticos que ocurren *in situ* regulan la disponibilidad, transporte, liberación y retención de la MOD (del Giorgio & Pace, 2008).

Las redes fluviales han sido identificadas como conductos activos, a través de los cuales la MOD no solo es transportada sino también es producida, almacenada en los sedimentos o mineralizada y emitida a la atmósfera (Cole et al., 2007, Raymond et al., 2013). La MOD es producida en todos los niveles de la red trófica (Fig. 19), y su captación por los organismos heterotróficos es esencial para incorporar carbono disuelto en las redes tróficas detritívoras (Findlay, 2010). El carbono orgánico es procesado continuamente por los organismos, modificando sus características estructurales (Stedmon & Cory, 2014). Las bacterias, por ejemplo pueden mineralizar la MOD a CO₂, alterando el carácter de la MOD remanente convirtiéndolo en más lábil (Cammack et al., 2004; Guillemette & del Giorgio, 2011) o recalcitrante (Ogawa et al., 2001) y por consiguiente modificando sus funciones a lo largo del continuo fluvial (Wetzel, 2001).

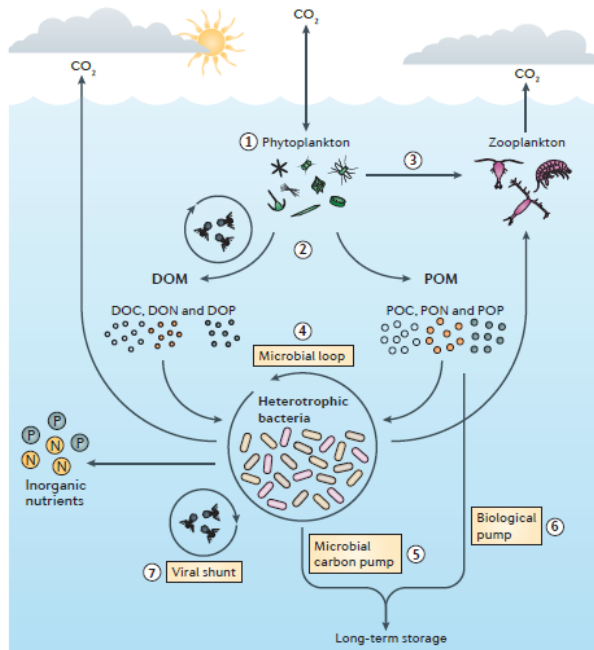


Fig. 19: Imagen tomada de Buchan et al., 2014. Transformación y producción de COD a lo largo de la red trófica acuática. El ciclo del carbono incluye una serie de procesos, varios de los cuales están mediados por microorganismos.

Por otro lado la radiación ultravioleta (UV), puede alterar la composición de la MOD (Gonsior et al., 2009) degradando las sustancias húmicas (Meng et al., 2009) y promoviendo la formación de compuestos de bajo peso molecular (Berltisson & Tranvik, 2015) u oxidando la MOD a CO₂ (Miller & Zepp, 1995). Existen numerosos modelos conceptuales que explican la dinámica de la MOD en redes de drenaje. Según la teoría del “River continuum concept” (RCC), la diversidad de compuestos en la MOD disminuye aguas abajo debido a la captación de la MOD en los arroyos de orden menor (Vannote et al., 1980). De acuerdo con esto, se espera un aumento en las moléculas recalcitrantes y una disminución en el procesamiento de la MOD, aguas abajo. Amon & Benner (1996), propusieron el modelo del continuo reactividad - tamaño (“reactivity - size concept”, RSC) según el cual las moléculas más grandes son las más susceptibles de ser transformadas. Así las moléculas más grandes y reactivas predominan en las cabeceras, mientras que las moléculas de menor tamaño y recalcitrantes (menos reactivas) predominan aguas abajo. Recientemente, Raymond et al. (2016), sugirieron que los eventos hidrológicos (tormentas o deshielos), son los conductores principales de la dinámica de la MOD a escala de cuenca. Estos autores proponen un modelo teórico denominado pulso-exportación (“pulse-shunt

concept”, PSC) según el cual, durante eventos de alto caudal a consecuencia de tormentas o deshielos, se producen pulsos de MOD desde el paisaje a través de las vías superficial o subsuperficial. Esta MOD es rápidamente exportada aguas abajo, debido a alta velocidad de corriente. La disminución en el tiempo de residencia altera el gradiente de reactividad y diversidad de compuestos en la MOD aguas abajo. En consecuencia la MOD que es exportada durante los eventos es biológicamente reactiva aunque conserva las características de su origen (Fig. 20).

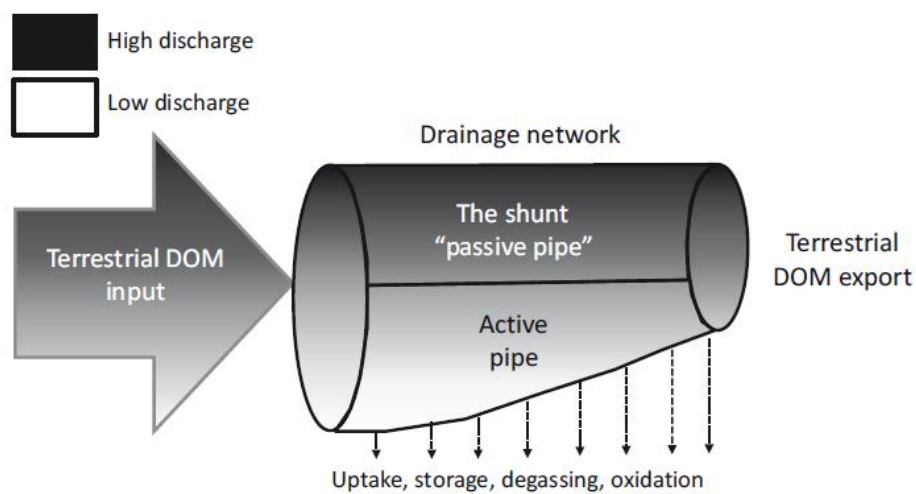


Fig. 20: Tomado de Raymond et al. (2016). Los ingresos de MOD de origen terrestre, está dominada por los eventos de alto caudal. La mayor parte de ese COD, entra en un tubo pasivo y es transportado conservativamente a través de la red de drenaje. El COD que ingresa en condiciones de bajo caudal, entra en un tubo activo, en el cual es procesado y no exportado.

Según esto último, se espera un bajo procesamiento de la MOD (tubo pasivo), sin captación ni liberación de COD, en condiciones de alto caudal y un mayor procesamiento y producción autóctona (captación, liberación, etc.) en condiciones basales (Butturini et al. 2016).

En este capítulo se utilizó la aproximación de balance de masas para examinar la dinámica de la MOD a escala de tramo, siguiendo los cambios en la concentración y composición química de la MOD. Los cambios en la composición de la MOD se examinaron mediante espectroscopia de absorción y fluorescencia.

Los objetivos de nuestro trabajo fueron (i) conocer las fuentes de COD en un tramo de un arroyo pampeano y (ii) determinar si el tramo retiene, libera o es conservativo para la carga de COD y para los distintos descriptores de las características químicas de la MOD.

Metodología

Los datos utilizados para el cálculo del balance de masas, fueron obtenidos según la metodología detallada en el capítulo 4. Se consideraron para ellos los datos obtenidos durante los 18 muestreos realizados bajo condiciones de caudal basal y en condiciones de alto caudal. Los muestreos se realizaron entre los meses de julio de 2013 y agosto de 2015.

Calculo del balance de masas

Para el cálculo del balance de masas se usó la aproximación global en la cual el arroyo es visto como una caja negra, en la cual todas las entradas se suman juntas como una sola entrada general del sistema.

El balance de masa considerando las entradas y salidas, es un modelo de mezcla simple similar al modelo de mezcla de “end member” (“end member mixing model”, EMMA) ampliamente utilizado en la hidrología de cuencas pequeñas (Hooper et al., 1990, Christophersen & Hooper, 1992).

Para la determinación de los principales “end members” que contribuyen al caudal, se realizó un muestreo preliminar en el cual se midió la conductividad (EC) y las concentraciones de los iones conservativos (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Cl^- , SO_4^{-2} , etc.) en el arroyo, sus tributarios y en el resto de los “end members”. Aplicando un análisis de componentes principales (PCA) a estos datos, se observó que las variables con mayor peso fueron EC, Ca, Mg y Na en el primer eje y Cl y K en el segundo. De estas variables, las que mejor separaron las fuentes de agua fueron EC y la concentración de Ca, por lo que fueron usadas para estimar la contribución relativa de cada uno de los “end member” al caudal del arroyo (ver anexo capítulo 7). Luego se determinó gráficamente cuáles “end members”

explicaban mejor la composición del arroyo. En condiciones basales los mejores predictores fueron los tributarios (B_1 y B_2) y el agua subterránea, mientras que en condiciones de alto caudal, se agregó la escorrentía superficial (E_{SUP}) (Fig. 21).

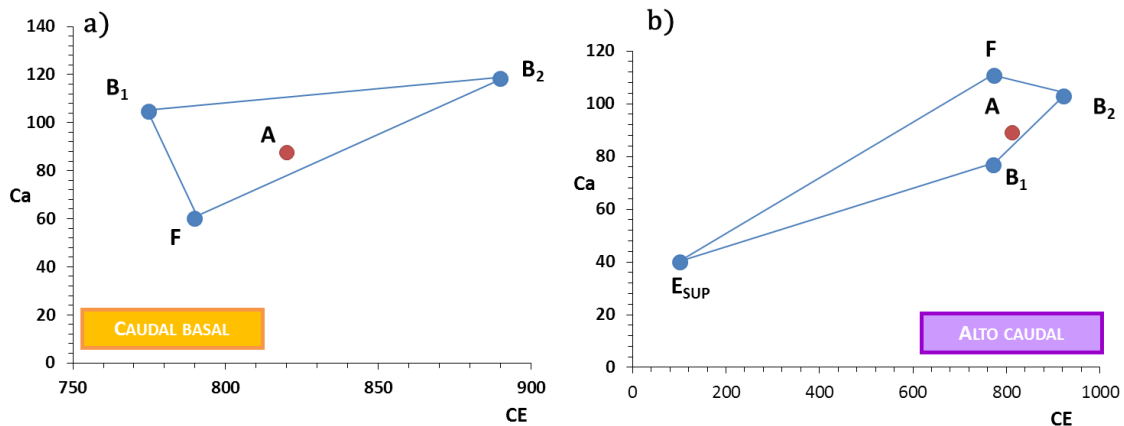


Fig. 21: Determinación gráfica de los principales “end members” que contribuyen al caudal, a) condición de caudal basal b) condición de crecida

Según el modelo global para el balance de masas, los ingresos fueron la suma del agua y los solutos de los dos tributarios (B_1 y B_2) y del agua subterránea (F) en condiciones basales, agregando la escorrentía superficial en condiciones de alto caudal. Las salidas fueron el agua y los solutos en el punto de muestreo A, ubicado aguas abajo (Fig. 22)

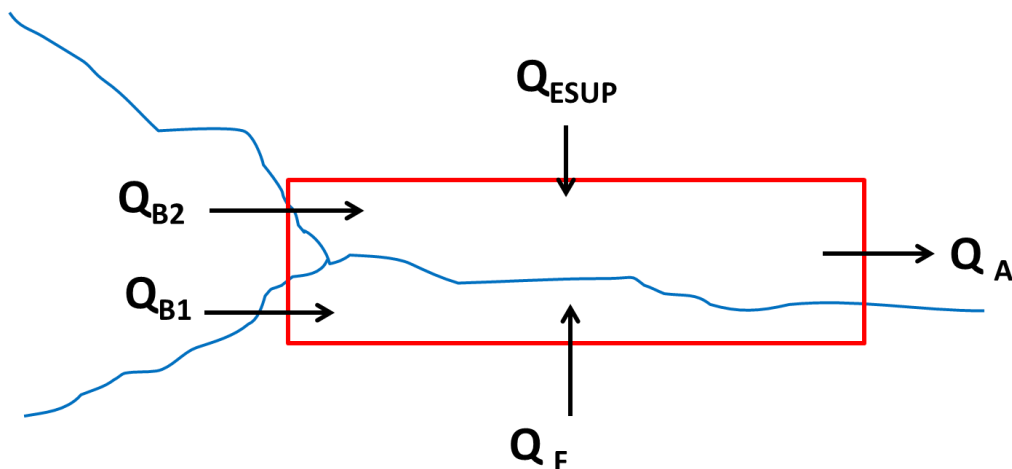


Fig. 22: Modelo global del balance de masa, donde Q_{B1} (caudal del brazo 1), Q_{B2} (caudal del brazo 2), Q_{ESUP} (caudal de la escorrentía superficial), Q_F (caudal del agua subterránea, freática) y Q_A (caudal del arroyo).

El Q_{ESUB} y la Ll no se consideraron en la eq. 4, ya que la incorporación de estos “end member” al modelo no mejoraba la estimación. En condiciones de caudal basal, el flujo debido a la escorrentía superficial se ignoró y se consideró igual a cero ($Q_{ESUP}=0$).

En consecuencia, el balance hídrico en condiciones basales será:

$$Q_A = Q_{B1} + Q_{B2} + Q_F \quad [\text{masa tiempo}^{-1}] \quad (\text{eq. 4})$$

Para estimar la contribución de cada uno de los “end members” al caudal del arroyo, se usó la concentración de los iones conservativos (eq. 5)

$$C_A Q_A = C_{B1} Q_{B1} + C_{B2} Q_{B2} + C_F Q_F \quad [\text{masa tiempo}^{-1}] \quad (\text{eq. 5})$$

donde C es la concentración del soluto conservativo Ca (o EC) medida en cada uno de los compartimentos hidrológicos (A , B_1 , B_2 , y F). Resolviendo el sistema de ecuaciones 4 y 5, fue posible estimar el valor desconocido de Q_F , en condiciones basales. En condiciones de alto caudal, no fue posible omitir el Q_{ESUP} , por lo que este valor se obtuvo resolviendo un sistema de tres ecuaciones con tres incógnitas, usando la EC y la concentración de Ca como solutos conservativos. Una vez obtenidos los caudales del freático y de la escorrentía, se calculó la concentración esperada (C_{exp}) aplicando la eq. 6, usando los iones conservativos y la EC . Los casos en los que las diferencias entre la concentración de Ca y EC esperadas y medidas, resultaron ser menores al 5 % fueron considerados válidos, aquellas cuya diferencias fueron mayores fueron descartadas debido a que no se cumplía la eq. 5.

$$C_{exp} = \frac{\sum_{i=1}^4 C_i Q_i}{Q_A} \quad [\text{masa.Volumen}^{-1}] \quad (\text{eq. 6})$$

Donde Q_A es el mismo que en la eq. 1 (ver página 30), C_i es la concentración de COD en cada uno de los “end member”, y Q_i es el caudal. La \sum_i tiene como límite superior el número 4, ya que son 4 las posibles fuentes de ingreso (ver eq. 4).

La eficiencia de retención/liberación del COD ($\eta_{(COD)}$) se calculó de acuerdo a la siguiente formula (Butturini et al. 2016):

$$\eta_{(COD)} = \frac{(C_{meas} - C_{exp})}{C_{exp}} \times 100 [\%] \quad (\text{eq. 7})$$

Donde C_{meas} , es la concentración medida de COD y, C_{exp} es la concentración esperada. A partir de la ecuación anterior, $\eta < 0$ indica retención de COD, mientras que $\eta > 0$ indica una liberación de COD. Para disminuir la sobreestimación/subestimación de la retención/liberación de COD neta en el arroyo, los valores de la eficiencia de retención/liberación se corrigieron usando la conductividad eléctrica EC como marcador conservativo (Pellerin et al., 2007) y se calculó la eficiencia de EC ($\eta_{(EC)}$), a partir de la ecuación 4. Los valores de eficiencia de COD ($\eta_{(COD)}$) se compararon luego con los de eficiencia de EC ($\eta_{(EC)}$) y estimaron las eficiencias corregidas por la EC (η'), siguiendo los siguientes criterios descritos en Butturini et al. (2016):

Si $\eta_{(COD)}$ y $\eta_{(EC)}$ tienen el mismo signo y $|\eta_{(EC)}| > |\eta_{(COD)}|$, $\Rightarrow \eta' = 0$

Si $\eta_{(COD)}$ y $\eta_{(EC)}$ tienen el mismo signo y $|\eta_{(EC)}| < |\eta_{(COD)}|$, $\Rightarrow \eta' = \eta_{(COD)} - \eta_{(EC)}$

Si $\eta_{(COD)}$ y $\eta_{(EC)}$ tienen signos opuestos $\Rightarrow \eta' = \eta_{(COD)}$

El mismo concepto de mezcla se aplicó a los índices espectrofotométricos y fluorimétricos. En este caso las eficiencias de retención/liberación, se calcularon multiplicando el valor del índice de absorbancia o fluorescencia por el caudal para cada uno de los “end member”. Esta eficiencia luego se comparó con la eficiencia de EC ($\eta_{(EC)}$) y estimaron las eficiencias corregidas por la EC (η'), siguiendo los mismos criterios que los que detallaron anteriormente para el COD.

Resultados

El modelo de mezcla pudo aplicarse a 10 muestreos, 8 en condiciones basales y 2 en condiciones de alto caudal (Tabla 6). El resto de los muestreos no pudieron utilizarse para el cálculo de los balances de masas, ya que no cumplían con la igualdad planteada en la eq. 5.

Tabla 6: Datos de caudal ($l\ s^{-1}$) para el arroyo y en sus tributarios (B₁ y B₂) para las 10 ocasiones de muestreo utilizadas para el cálculo del balance de masas.

Condición hidrológica	Fecha	Caudal ($l\ s^{-1}$)		
		Arroyo	B1	B2
Caudal Basal	10/9/2013	51,57	11,19	16,13
Caudal Basal	25/9/2013	62,42	11,83	14,09
Caudal Basal	15/10/2013	60,49	9,09	12,64
Caudal Basal	13/11/2013	66,88	5,56	13,88
Caudal Basal	17/3/2014	113,32	31,81	34,30
Caudal Basal	28/4/2014	94,95	18,35	31,08
Caudal Basal	19/5/2014	137,88	46,67	39,99
Caudal Basal	2/7/2014	99,57	25,04	39,94
Lluvia	23/7/2014	410,50	198,60	111,72
Lluvia	1/12/2014	594,737	208,205	165,3225

Contribución de los “end members”

En condiciones basales la EC y la concentración de Ca en el agua del arroyo fueron explicadas por la contribución del agua subterránea y los dos tributarios (B₁ y B₂) (Fig. 23).

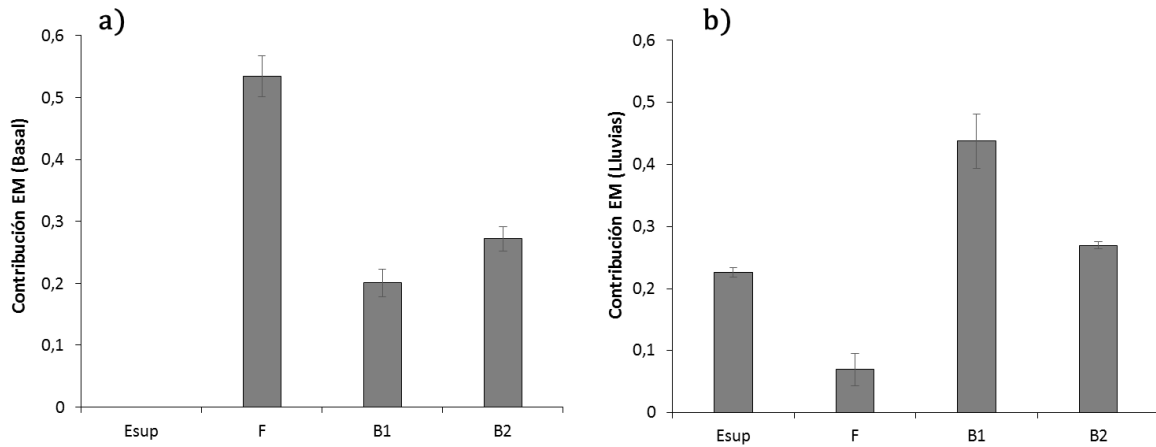


Fig. 23: Contribución de los “end member” al caudal del arroyo, a) condiciones basales y b) condiciones de alto caudal (lluvias).

Aproximadamente la mitad del agua del arroyo fue aportada por el agua subterránea, mientras que B₁ y B₂ aportaron la mitad restante, cada uno con una contribución similar. En condiciones de alto caudal, los “end members” que contribuyeron al caudal del arroyo fueron los mismos (F, B₁ y B₂), sumado la escorrentía superficial (E_{SUP}). En estas condiciones la contribución del B₁, fue mayor que la del B₂ y ambas representan aproximadamente la mitad del caudal del arroyo (Fig. 24 y Tabla 6). La contribución del agua subterránea al caudal varió entre 71 % y 3 % y estuvo inversamente relacionada con la descarga ($R^2 = 0,92$, $p < 0,00001$). Contribuciones mayores del freático (> 55 %) se observaron a caudales menores a los 70 l s⁻¹. Por el contrario, a caudales altos la contribución del agua subterránea claramente disminuye a menos del 11 %. Con respecto a los tributarios, la contribución del B₁ estuvo significativamente relacionada con el caudal ($R^2 = 0,82$, $p = 0,0003$), variando entre menos del 25 % en condiciones basales hasta más 35 % en condiciones de alto caudal. Contrariamente, la contribución de B₂ fue en promedio del 27 ± 6 % y no estuvo relacionada con el caudal ($R^2 = 0,24$, $p > 0,05$). Solo en condiciones de alto caudal ($Q > 400$ l s⁻¹), los aportes de la escorrentía superficial al caudal tienen una contribución significativa (23 ± 1 %) (Fig. 23).

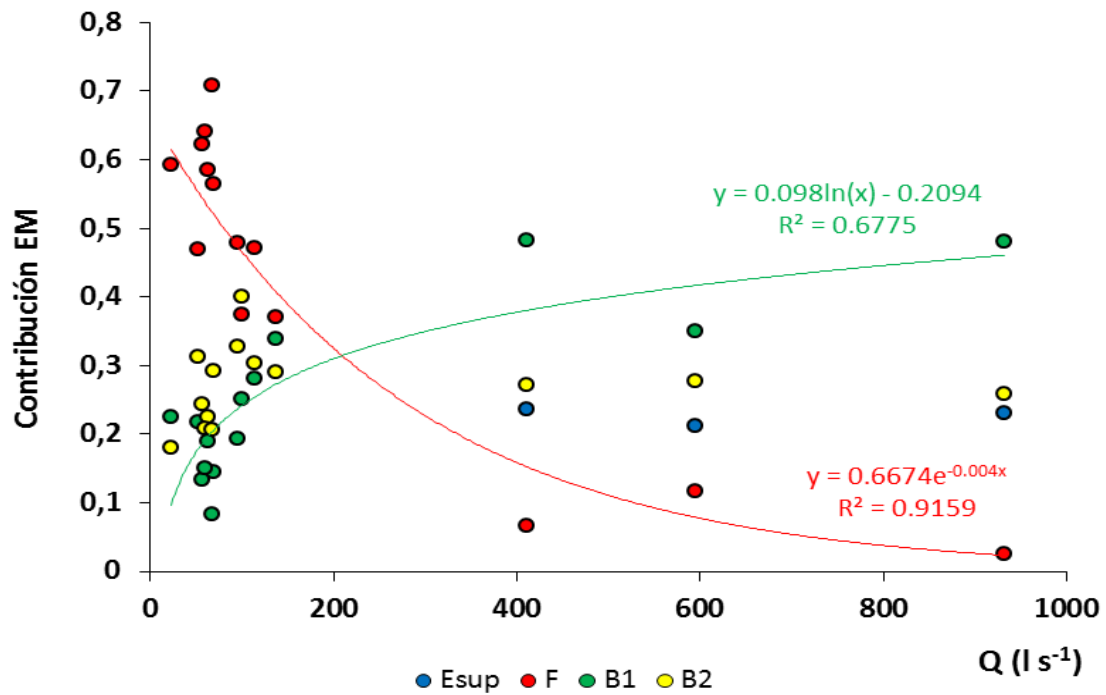


Fig. 24: Contribución de los “end member” en función del caudal (Q ($l\ s^{-1}$)). El modelo que mejor describió la relación entre la contribución del B1 y el caudal fue logarítmico (línea verde), y el modelo que mejor describió la relación entre la contribución del freático y el caudal fue el modelo potencial (línea roja).

Balance de masas

De acuerdo con el balance de masas, el tramo es una fuente importante de COD (Tabla 7).

La $\eta'_{(COD)}$ fue en promedio $21,9 \pm 9,2$ %. En el 70 % de los casos analizados el tramo liberó

COD, mientras que el 30 % de los casos el tramo retuvo.

Tabla 7: Eficiencias de retención/liberación $\eta'_{(COD)}$ para el tramo de estudio. Los valores positivos indican una ganancia neta del soluto a lo largo del tramo, mientras que los valores negativos indican una pérdida neta.

Condición hidrológica	Fecha	Balance del tramo		
		$\eta'_{(COD)}$	Contribución EM	
			F = 0.47	Libera
Basal	10/9/2013	20,47	B1 = 0.217	
			B2 = 0.313	
			F = 0.585	
Basal	25/9/2013	53,85	B1 = 0.189	
			B2 = 0.226	
			F = 0.641	
Basal	15/10/2013	58,48	B1 = 0.150	
			B2 = 0.209	
			F = 0.709	
Basal	13/11/2013	52,22	B1 = 0.083	
			B2 = 0.207	
			F = 0.471	
Basal	17/3/2014	34,22	B1 = 0.281	
			B2 = 0.303	
			F = 0.479	
Basal	28/4/2014	15,05	B1 = 0.1931	
			B2 = 0.327	
			F = 0.371	
Basal	19/5/2014	25,34	B1 = 0.338	
			B2 = 0.290	
			F = 0.374	Retiene
Basal	2/7/2014	-23,33	B1 = 0.252	
			B2 = 0.401	
			Esup = 0.236	
Lluvia	23/7/2014	-18,5	F = 0.067	
			B1 = 0.483	
			B2 = 0.272	
			Esup = 0.212	
Lluvia	1/12/2014	-0,25	F = 0.116	
			B1 = 0.35	
			B2 = 0.278	

En el caso de los índices de absorbancia y fluorescencia, el balance de masas pudo aplicarse a 7 de los 10 casos estudiados, 6 en condiciones basales y 1 en condiciones de alto caudal. En general se observa que en el tramo el peso molecular de la MOD tiende a incrementarse con respecto a las entradas (Fig. 25 y Tabla 8).

Tabla 8: Eficiencias de retención/liberación, corregidas por la EC, para el tramo de estudio para los índices de absorbancia y fluorescencia. Los valores positivos indican una ganancia neta del soluto a lo largo del tramo, mientras que los valores negativos indican una pérdida neta

Condición hidrológica	Fecha	Balance del tramo										Contribución EM
		$\eta'_{(SR)}$	$\eta'_{(SUVA)}$	$\eta'_{(HIX)}$	$\eta'_{(BIX)}$	$\eta'_{(FI)}$	$\eta'_{(Pico A)}$	$\eta'_{(Pico C)}$	$\eta'_{(Pico M)}$	$\eta'_{(Pico B)}$	$\eta'_{(Pico T)}$	
												F = 0.585
Basal	25/9/2013	-21,11	-2,65	20,25	-28,89	-98,65	37,15	33,23	28,75	61,16	66,74	B1 = 0.189
												B2 = 0.226
												F = 0.641
Basal	15/10/2013	-76,21	-0,57	77,49	-23,67	-98,34	-64,39	53,55	50,95	-5,93	-1,64	B1 = 0.150
												B2 = 0.209
												F = 0.709
Basal	13/11/2013	-98,04	63,05	44,32	17,52	-98,39	83,72	79,90	6,51	45,95	-96,95	B1 = 0.083
												B2 = 0.207
												F = 0.471
Basal	17/3/2014	-87,47	0,00	47,28	0,00	0,00	37,46	40,13	44,09	0,00	14,54	B1 = 0.281
												B2 = 0.303
												F = 0.479
Basal	28/4/2014	-99,21	-72,39	71,99	-17,30	-3,69	-64,21	-65,48	-94,35	-86,33	-85,10	B1 = 0.1931
												B2 = 0.327
												F = 0.371
Basal	19/5/2014	-24,08	-38,23	121,30	5,02	-92,66	7,48	6,13	7,30	-66,40	-57,71	B1 = 0.338
												B2 = 0.290
												F = 0.374
Basal	2/7/2014		848,49	-69,83	-33,00	0,72	108,61	172,28	325,44	484,10	562,43	B1 = 0.252
												B2 = 0.401
												Esup = 0.236
Lluvia	23/7/2014	-6,98	16,82	18,16	33,30	-11,68	53,97	52,68	53,13	65,85	48,86	F = 0.067
												B1 = 0.483
												B2 = 0.272

Los índices relacionados con la fracción húmica de la MOD, HIX (grado de humificación del material) o los picos A, C y M, tienen eficiencias positivas ($\eta' > 0$), que fueron en promedio $41,37 \pm 19,83 \%$ y $24,97 \pm 22,30 \%$, $46,56 \pm 23,70$, $52,73 \pm 42,44 \%$, respectivamente (Tabla 8 y Fig. 25). Por otro lado observamos que el BIX, asociado al material fresco y recientemente producido, tiene valores de eficiencia negativos ($\eta' < 0$), en promedio $-18,62 \pm 5,11$. Esto puede interpretarse como una eficiencia menor a la esperada, lo que sugiere que se trata de un material más viejo y degradado, probablemente debido a que el material lábil y más reciente es rápidamente consumido. Esta idea es apoyada por las eficiencias observadas para los índices FI y S_R ($-50,34 \pm 17,70 \%$ y $-59,01 \pm 15,13 \%$, respectivamente), lo que sugiere que los materiales en la MOD tienen características similares a compuestos de tipo húmico de elevado peso molecular (Tabla 8). Como se mencionó anteriormente, observamos que en condiciones basales predomina la liberación de compuestos de elevado peso molecular. Sin embargo, en aquellos casos en los que hay

perdidas de COD se observan valores de eficiencias positivas, lo que sugiere un aumento en la proporción tanto de compuestos húmicos como proteicos lo que podría asociarse a un ingreso de materiales desde las riberas (Fig. 25).

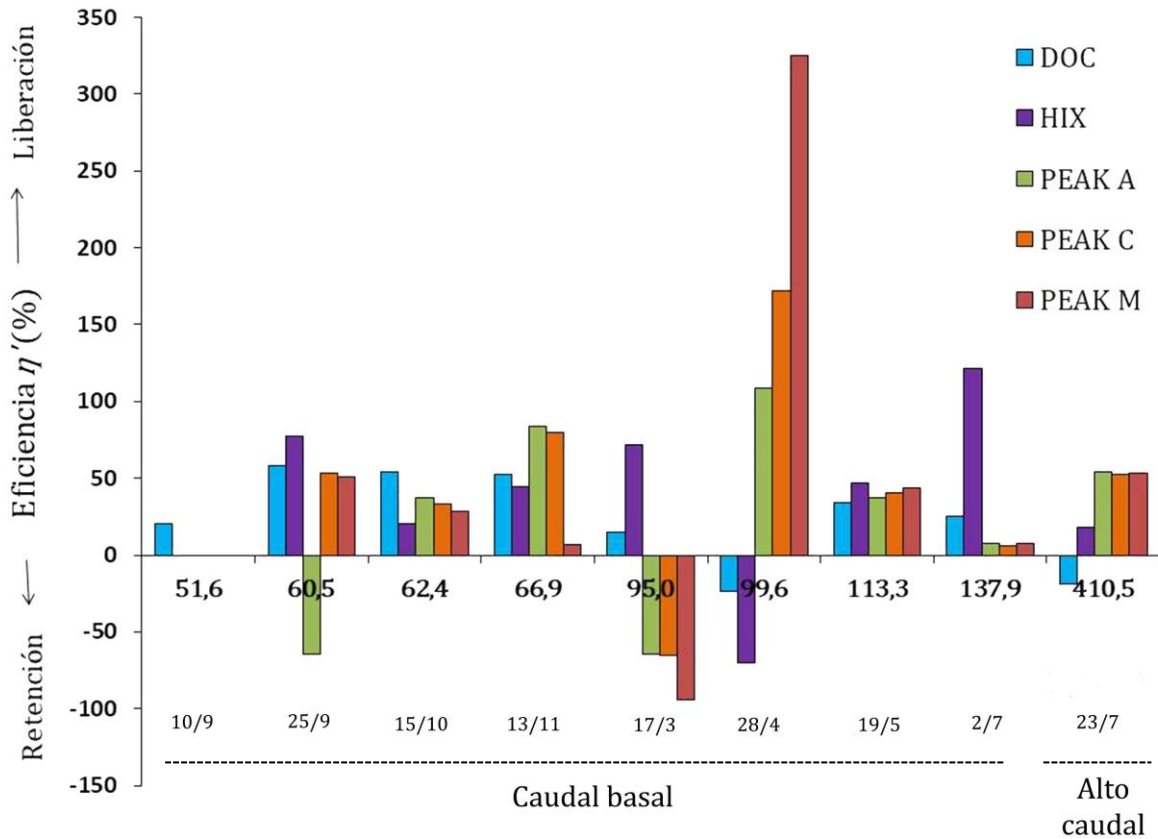


Fig. 25: Eficiencias de retención/liberación (%) en función del caudal (l s⁻¹), para la concentración de COD, el índice de humificación (HIX) y para los principales picos húmicos (Peak A, C y M).

Discusión

Los resultados del balance de masa indican que el caudal del arroyo es explicado por la contribución del F, B₁ y B₂. La contribución del freático estimada a partir del balance es masas es del ~50 %. Esto es apoyado por el hecho de que en condiciones basales la altura relativa del freático está por encima del caudal del arroyo, lo que sugiere que el caudal del arroyo es mantenido por el aporte del freático (ver capítulo 5). Sin embargo, los tributarios tienen un comportamiento hidrológico diferente, en función de las condiciones

hidrológicas. Mientras que la contribución de B_1 y B_2 son similares en condiciones basales, la contribución relativa del B_1 es casi el doble que la de B_2 en condiciones de alto caudal. Además, la contribución del B_1 se relacionó positivamente con el caudal, mientras que la contribución de B_2 no mostró ninguna asociación con el caudal. Estas diferencias pueden explicarse por una mayor área de la cuenca de B_1 comparada con el área de la cuenca del B_2 . Por otro lado, B_2 recibe el efluente de una industria láctea, que podría atenuar su respuesta a las precipitaciones, dado que recibe este efluente industrial de manera continua. Esto puede traducirse en una menor respuesta del caudal de B_2 frente a los cambios en las condiciones hidrológicas, que sí es observado en el B_1 (Fig. 23).

La contribución del F disminuye, mientras que la contribución de la escorrentía se vuelve significativa en condiciones de alto caudal (cuando el caudal es $> 400 \text{ l s}^{-1}$ y representa más del $> 20 \%$ del caudal del arroyo)

Balance de masas

Anteriormente mencionamos que la concentración de COD aumenta con el aumento del caudal (ver capítulo 6). Al analizar el balance de masas para el tramo observamos que en la mayoría de los casos analizados en condiciones basales hay liberación de COD, mientras que en condiciones de alto caudal, el tramo retiene COD. Nuestros resultados contrastan trabajos anteriores en ríos del hemisferio norte, donde se observó un comportamiento altamente retentivo en condiciones de bajo caudal debido a la sequía (Butturini et al., 2016). Asimismo, Casas-Ruiz et al. (2017) encontraron que en la mayoría de los casos el río se comporta como un conducto pasivo, y sugieren que las pérdidas podrían estar compensadas por la generación de MOD, a escala de cuenca, en condiciones basales. En términos de la composición de la MOD, observamos que en el tramo se genera MOD de peso molecular más elevado en comparación con la MOD que es aportada por los “end members” a caudales $< 400 \text{ l s}^{-1}$. Encontramos además que la liberación de COD para el

arroyo Las Flores se relaciona positivamente con la temperatura (ver Fig. A2 anexo capítulo 7). En relación a esto, se sabe que la eficiencia de crecimiento en las bacterias depende de factores abióticos como la temperatura y la disponibilidad de nutrientes inorgánicos (del Giorgio & Cole, 1998; Wikner et al., 1999). Por lo tanto, los resultados sugieren que hay una producción *in situ* de COD autóctona en el tramo estudiado. La producción de autóctona de COD fue observada anteriormente en arroyos forestados de USA y se la asoció a la actividad de los organismos autotróficos y heterotróficos (Stedmon & Cory, 2014). Existen evidencias de la producción de compuestos de tipo húmico a partir de compuestos lábiles preexistentes, como carbohidratos, proteínas, ácidos orgánicos etc., o a través de la producción de nuevos compuestos, por parte de organismos heterótrofos (Ogawa et al., 2001; Kothawala et al., 2012; Shimotori et al., 2012; Asmala et al., 2014; Hansen et al., 2016). Esta idea apoya los resultados de este trabajo según los cuales, en el tramo hay generación de compuestos de alto peso molecular, cuyas características químicas se asocian a los compuestos de tipo húmico (Tabla 8 y Fig. 25).

Por otra parte observamos que el COD es débilmente retenido a caudales mayores a los 400 l s^{-1} . Nuestros resultados se contraponen a lo esperado tomando en consideración el modelo del pulso-liberación (Raymond et al., 2016), según el cual hay un transporte conservativo del soluto (el tramo se comporta como un conducto pasivo) en condiciones de alto caudal. En concordancia con el modelo propuesto por Raymond et al. (2016), Butturini et al. (2016), observó que el sistema cambió de ser altamente retentivo en condiciones de sequía a comportarse como un conducto pasivo durante condiciones de alto caudal. Casas-Ruiz et al. (2017), propone que el tiempo de permanencia del agua en el cauce determina si un tramo se comporta como un conducto pasivo o como un reactor (mayor procesamiento de la MOD) y encontraron que las redes fluviales tienden a comportarse como reactores activos durante los periodos de bajo caudal, cuando el tiempo de residencia en la red es alto. Sin embargo, estos autores encontraron un

procesamiento activo para tiempos de permanencia extremadamente cortos (~2 hs) lo cual apoya lo observado en este trabajo, donde se asume que el tiempo de viaje del agua desde la confluencia de los tributarios es relativamente corto (~5 hs).

Si bien nuestros datos no resultaron ser suficientes para describir las condiciones de alto caudal (un solo caso analizado para las propiedades ópticas de la MOD), es interesante destacar que aun cuando hay pérdida de COD en el tramo, se observan eficiencias de liberación de ~50 % tanto para compuestos de tipo proteicos como compuestos de tipo húmico. Como se mencionó en el capítulo anterior, ambos tipos de compuestos (húmicos y proteicos) están presentes en la escorrentía superficial y subsuperficial (E_{SUP} y E_{SUB}), originados de la degradación del pastizal, hojas y exudados de raíces (Yano et al., 2004; Bernal et al., 2006; Guarch-Ribot & Butturini, 2016). Dado que la contribución de la escorrentía es significativa en condiciones de alto caudal, esto indica que bajo esas condiciones hay un aporte alóctono de compuestos húmicos y proteicos observados aguas abajo del tramo. Esto último concuerda con los resultados obtenidos a partir del seguimiento de los eventos de precipitación, en donde observamos un ingreso de materiales alóctonos desde la ribera a medida que el caudal aumenta (Capítulo 6).

La teoría clásica (RCC) propone el incremento de materiales recalcitrantes aguas abajo debido al procesamiento de compuestos lábiles en las cabeceras. Los arroyos pampeanos se diferencian sustancialmente de los arroyos del hemisferio para los cuales esta teoría fue planteada, debido principalmente a la ausencia de bosques de ribera (que aportan materiales como ramas y hojas) y a las escasas pendientes. Contrariamente a lo que postula el RCC, en los arroyos pampeanos hay una alta producción *in situ* de compuestos lábiles (tipo proteicos) y recalcitrantes (tipo húmico), siendo los primeros principalmente retenidos (Butturini et al., 2016). En este trabajo no se realizaron ensayos de biodegradabilidad del carbono, por lo cual nuestras conclusiones acerca de que los compuestos producidos por el arroyo son recalcitrantes están basadas en las

características químicas y en base a lo propuesto en la bibliografía. Creemos importante incluir este tipo de ensayos en investigaciones futuras.

Recapitulación de la hipótesis

- Los eventos de crecida afectan la composición química y la dinámica (transporte, transformación y retención) de la MOD en el tramo estudiado, con relación a las condiciones basales.

A partir de esta hipótesis se desprenden las siguientes predicciones:

2. Durante las crecientes la MOD será mayoritariamente alóctona y de origen terrestre, con preponderancia de compuestos más refractarios.
3. En condiciones basales, los procesos de transformación (procesamiento y producción *in situ*) de la MOD tendrán mayor relevancia que en condiciones de crecida, lo que se reflejará en una mayor retención de la MOD en el tramo
4. Durante las crecientes, aumentarán los aportes terrestres de MOD alóctona en detrimento de la MOD de origen autóctono, lo que producirá cambios en la calidad de la MOD del tramo, aumentando la presencia de compuestos refractarios y la exportación de MOD aguas abajo.

Nuestros resultados demuestran que en condiciones basales el tramo se comporta como un reactor, donde predominan los procesos de producción *in situ*, no obstante en condiciones de alto caudal se observa una retención débil. Observamos que al final del tramo predominan los compuestos refractarios y más degradados. Sugerimos que en el tramo ocurren procesos de producción *in situ*, resultado de los cuales se generan materiales tanto lábiles (proteicos) como refractarios (tipo húmico). Los materiales lábiles son preferentemente retenidos, de modo que los materiales refractarios son exportados aguas abajo. Sin embargo en condiciones de alto caudal se produce el ingreso de

materiales desde las riberas a través de los flujos superficiales y subsuperficiales, que aportan compuestos de tipo húmico y proteico de origen alóctono

Capítulo 8 - Caracterización de la MOD aplicando el Parallel Factor Analysis (PARAFAC)

Introducción

La MOD es un componente clave en los ecosistemas acuáticos ya que está implicada en distintos procesos como, la atenuación de la radiación UV, el transporte de metales pesados y otros contaminantes, etc. (Stubbins et al., 2014). Como se mencionó anteriormente, una fracción de los compuestos orgánicos presentes en la MOD absorben luz (MOD cromofórica o “colored DOM”, CDOM por sus siglas en inglés), y una subfracción de esta MOD además fluoresce (“fluorescent DOM”, FDOM. por sus siglas en inglés; Fig. 26) (Stedmon & Cory, 2014).

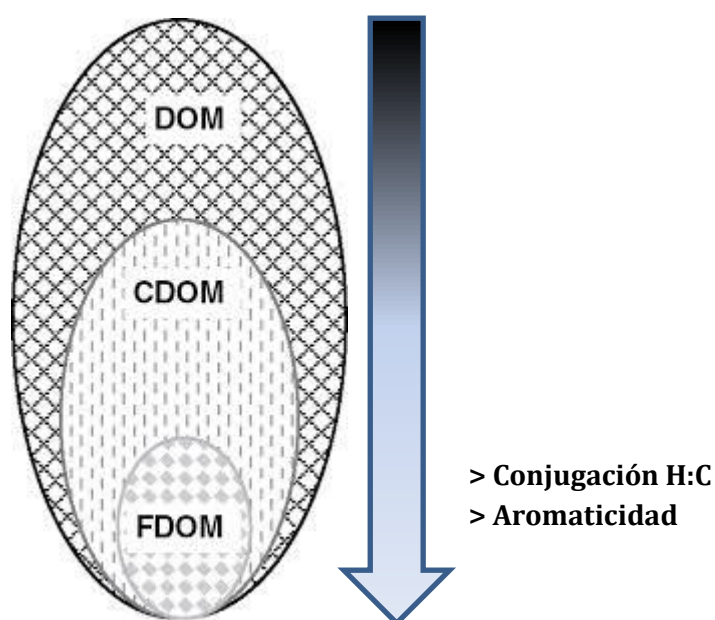


Fig. 26: Esquema gráfico del solapamiento entre la MOD, CDOM y FDOM (Modificado de Stedmon y Cory 2014). La flecha indica el incremento de la aromaticidad, de la conjugación y de la proporción carbono: hidrógeno (C:H) (Álvarez-Salgado, 2011).

El uso de técnicas de espectroscopía de absorción y fluorescencia para el análisis y caracterización de la MOD en ambientes acuáticos ha ganado un amplio interés en las últimas décadas, debido a la simplicidad de esta metodología y a la gran cantidad de información que aportan. Sin embargo, la falta de criterios unificados para el análisis y evaluación de sus datos ha complicado su uso (Korak et al., 2014).

La espectroscopía de fluorescencia mide la fracción de la MOD que absorbe y emite luz, la cual está generalmente asociada con la aromaticidad de la MOD (Senesi et al., 1991). La espectroscopía de fluorescencia se ha utilizado ampliamente para caracterizar las diferencias en las propiedades ópticas de la MOD en sistemas naturales (Hudson et al., 2007; Fellman et al., 2010; Garcia et al., 2015). Recientemente, varios estudios han mostrado cómo se pueden distinguir las diferentes fracciones presentes en la MO, a través de mediciones detalladas de los espectros de fluorescencia (Coble et al., 1990; Coble, 1996). El análisis reciente de la fluorescencia de la MOD se ha enfocado en el uso de matrices de excitación-emisión (EEM). Las EEMs son datos de fluorescencia tridimensionales, que brindan información sobre la composición de mezclas de compuestos químicos, mejorando la interpretación y la posibilidad de visualización gráfica de los datos, y conservando la información esencial presente en el set original de datos (Murphy et al., 2014). Las EEMs proveen información sobre la fuente, estado diagénético, reactividad, rol ecológico y químico de la MOD. Durante la última década las EEMs se han aplicado con éxito para la identificación de componentes terrestres, marinos, dulceacuícolas y antropogénicos de la MOD (Coble, 1996; Baker, 2001; Cory & McKnight, 2005; Burrows et al., 2013; Catalán et al., 2013). Los primeros estudios se basaban en la identificación visual de los picos (*peak picking*) y en el cociente de las emisiones de fluorescencia en diferentes regiones del espectro (Coble, 1996; McKnight et al., 2001). Actualmente el análisis multivariado de los datos se ha aplicado al estudio de las señales de fluorescencia de la MOD (Persson & Wedborg, 2001; Stedmon et al., 2003; Boehme et al., 2004; Hall et al., 2007). El *Parallel Factor Analysis* (PARAFAC), permite separar

matemáticamente los espectros de emisión superpuestos de compuestos fluorescentes y definir los componentes presentes en el set de muestras analizadas (Murphy et al., 2014). El PARAFAC es una herramienta que permite caracterizar y cuantificar los cambios en la fluorescencia de la MOD (Cory & McKnight, 2005; Hall et al., 2005; Stedmon & Markager, 2005a, b; Murphy et al., 2006). El modelo permite descomponer la fluorescencia del conjunto de datos en componentes individuales (componentes PARAFAC), es decir que el método separa los componentes de fluorescencia químicamente independientes pero espectralmente superpuestos (Murphy et al., 2011). Debido a que los componentes hallados aplicando PARAFAC son únicos para el set de muestras analizadas, resulta útil comparar los componentes PARAFAC con los picos de fluorescencia clásicos que se encuentran comúnmente en MOD de origen natural (Stubbins et al., 2014).

Modelo PARAFAC

El PARAFAC pertenece a una familia de métodos multivariados aplicables a sets de datos de tres o más dimensiones (Murphy et al., 2013). Los datos de fluorescencia tienen una tridimensionalidad debido a que la fluorescencia de una muestra varía dependiendo de la longitud de onda a la cual la luz es absorbida (excitación o λ_{exc}) y de la longitud de onda a la cual la fluorescencia es observada (emisión o λ_{em}). Combinando los datos de una serie de muestras resulta en un arreglo tridimensional (eq. 8, Fig. 27):

$$X_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + \varepsilon_{ijk}, i=1, \dots, I; j=1, \dots, J; k=1, \dots, K \quad (\text{eq. 8})$$

donde X_{ijk} es un elemento del arreglo de datos tridimensional con dimensiones I, J y K. Para el análisis de las EEMs, el número X_{ijk} es la intensidad de la muestra i medida a la emisión $\lambda_{em} j$, con la excitación $\lambda_{exc} k$. El termino final ε_{ijk} representa la señal no explicada (residual considerando la variabilidad no explicada por el modelo). La salida del modelo son los parámetros a_{ijk} b_{ijk} c_{ijk} , donde el parámetro a_{ijk} representa la concentración, b_{ijk} el

espectro de emisión y c_{ijk} el espectro de excitación de los fluoróforos, respectivamente (Murphy et al., 2013).

Cabe destacar que la posición de los fluoróforos no cambiará; sin embargo, la fluorescencia máxima de la mezcla cambiará dependiendo de la contribución relativa de cada uno de los fluoróforos (Murphy et al., 2013).

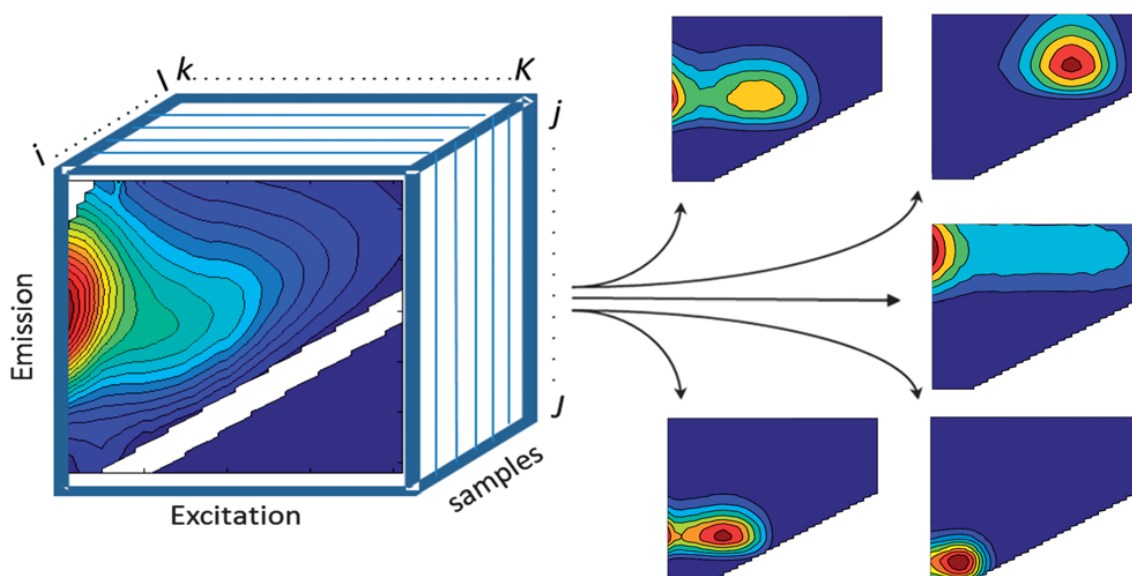


Fig. 27: Arreglo de EEMs en una estructura tridimensional y descompuesta en cinco componentes de PARAFAC (Tomado de Murphy et al., 2013).

Al igual que con otros métodos estadísticos hay supuestos fundamentales, necesarios para la aplicación del PARAFAC a la fluorescencia de la MOD (Stedmon & Bro, 2008, Murphy et al., 2013). Éstos son:

- a) Variabilidad: Dos componentes no pueden tener intensidades de fluorescencia perfectamente covariables.
- b) Trilinealidad: Los espectros de emisión no varían a través de las longitudes de onda de excitación, los espectros de excitación no varían a través de las longitudes de onda de emisión, y la intensidad de fluorescencia aumenta aproximadamente linealmente con la concentración.
- c) La señal total se debe a la superposición lineal de un número fijo de componentes.

Más allá de las potencialidades de esta técnica, la interpretación de los datos y el tratamiento estadístico continúan siendo un desafío (Bierozza et al., 2011). La firma espectral en las EEMs se debe a la fluorescencia independiente y superpuesta de un amplio rango de compuestos orgánicos presentes en la MOD (Ejarque-Gonzales, 2014), de los cuales sólo una pequeña proporción de compuestos han sido identificados (Benner, 2002) debido a la falta de estándares químicos necesarios para separar la señal de la MOD en sus componentes individuales. Por esta razón, existe la necesidad de desarrollar métodos de reconocimiento de patrones capaces de detectar y aislar la señal de diferentes compuestos fluorescentes en ausencia de conocimiento previo sobre la composición química de la MOD (Ejarque-Gonzalez, 2014).

El objetivo de este capítulo fue determinar los principales componentes de la MOD en el arroyo Las Flores aplicando el modelo PARAFAC.

Metodología

Todas las EEMs fueron corregidas por los sesgos específicos debidos al equipo usando una solución de Rodamina B (Casas-Ruiz et al., 2016). Como se mencionó en el capítulo 4, a cada una de las EEMs se le sustrajo un blanco de agua Milli-Q. Además, las EEMs fueron corregidas por el inner filter effect y fueron normalizadas por el área delimitada por el pico de dispersión Raman del agua a 350 nm, medido sobre una muestra de agua Milli-Q, lo que se utilizó para calibrar la intensidad de las EEMs en unidades Raman (RU; Stedmon & Bro, 2008; Lawaetz & Stedmon, 2009; Murphy et al., 2010). Las correcciones de las EEMs se realizaron utilizando la herramienta DrEMM del software MATLAB.

El análisis del PARAFAC consiste en una serie de pasos, los cuales se desarrollaron mediante el uso del paquete de herramientas DOMFluor del software MATLAB, propuesto en Stedmon & Bro (2008), siguiendo la metodología propuesta por los mismos autores. Se utilizaron en total 150 muestras para la aplicación del PARAFAC. Durante el

preprocesamiento del set de datos (i) se corrigieron los sesgos sistemáticos, (ii) las señales no relacionadas a la fluorescencia (como dispersión de Raman y Reylyght) fueron removidas, y (iii) se normalizó la señal considerando la fluorescencia total, debido a las diferencias en la concentración de las muestras. La fase exploratoria (**exploración del set de datos**) consiste en establecer el mejor conjunto de datos posible para su posterior modelado. En esta etapa se utilizaron los contrastes no negativos (utilizados para restringir el modelo, de modo que no haya componentes con valores de carga negativos) para identificar valores atípicos (outliers) debidos a muestras con señales erróneas o muestras muy diferentes del resto. Aquellas muestras consideradas outliers fueron eliminadas del set de datos. En esta etapa, además se ajustaron los datos a una serie de modelos, en cada uno de los cuales el número de componentes fue incrementándose desde 2 a 7 hasta obtener el número correcto de componentes. Luego de la eliminación de los outliers, los modelos (de 2 a 7 componentes) volvieron a correrse con el objetivo de determinar si la eliminación de la/las muestras outliers producía o no diferencias en los modelos resultantes. La obtención de un modelo diferente luego de la eliminación de las muestras outliers indica que estas muestras deben ser eliminadas del set de datos. El número de componentes fue validado mediante el análisis split-half (Harshman, 1984), la inspección visual de los residuales y la inicialización al azar. Brevemente, en el análisis de split-half el set de datos es dividido en dos mitades, las cuales son independientemente modeladas y luego comparadas. La obtención de modelos similares indica que el modelo es robusto (Stedmon & Cory, 2014). La inspección visual de los residuales consiste en examinar los residuos en busca de cualquier patrón sistemático. La presencia de picos o valles en los residuales indica que el número de componentes seleccionados es inapropiado. Por último la iniciación al azar consiste en realizar una serie de modelos, los cuales se ajustan utilizando números aleatorios como estimaciones iniciales y luego se comparó el ajuste de cada modelo (Stedmon et al., 2003; Cory & McKnight, 2005; Stedmon & Bro, 2008). En este estudio, el modelo con mejor ajuste se obtuvo realizando 10

inicializaciones al azar y comparaciones mediante el coeficiente de congruencia de Tucker para los “*split-half*”. Por último, una vez validado el modelo se obtuvo la intensidad máxima de fluorescencia ($F_{\text{máx}}$), y los loadings de excitación y emisión (parámetros b y c , mencionados en la eq. 8) de cada muestra para cada uno de los componentes (Stedmon & Bro, 2008) (Fig. 28).

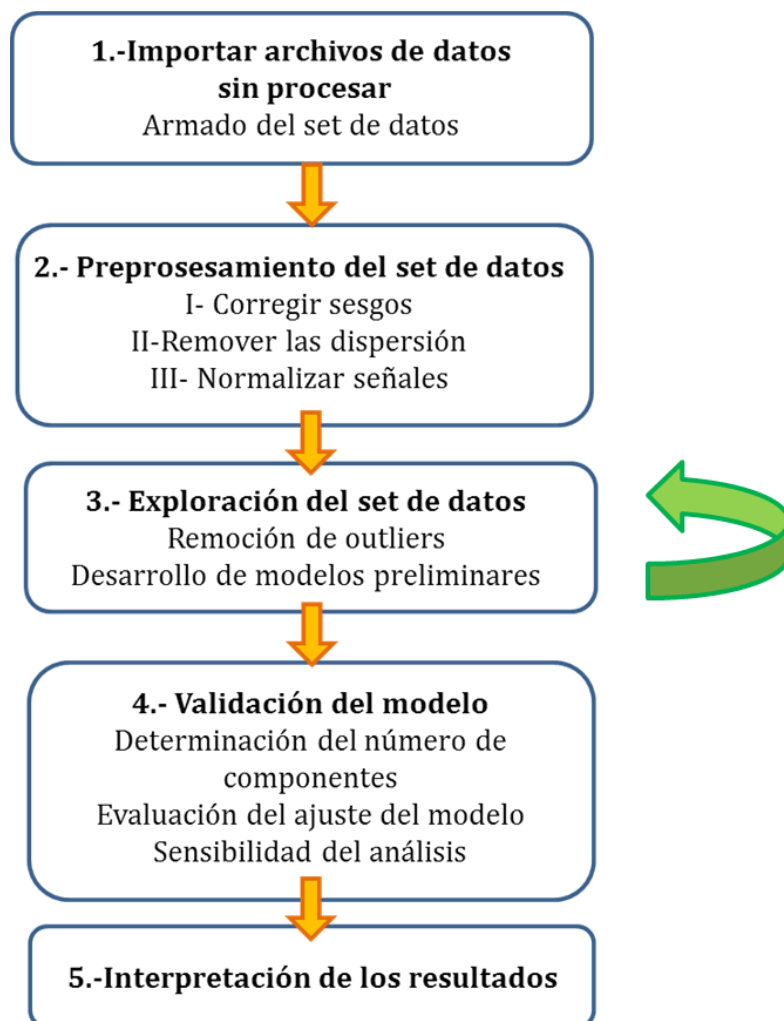


Fig. 28: Esquema de los pasos involucrados en el análisis de PARAFAC de matrices de emisión de excitación de fluorescencia (Modificado de Murphy et al. 2014).

Resultados

El PARAFAC aplicado al conjunto de todas las muestras permitió identificar tres componentes C1, C2 y C3 (Tabla 9) que contribuyen a la FDOM total. Los componentes de

PARAFAC fueron identificados y caracterizados a través de la combinación de sus máximos de excitación-emisión particulares (Tabla 1). De acuerdo con sus máximos de excitación y emisión el C1, coincide con el pico A, según la clasificación propuesta por Coble (1996, 2007), cuya fluorescencia se debe a materiales húmicos derivados del suelo. La fluorescencia del C2 también está dada por sustancias de tipo húmico pero en este caso el máximo de emisión esta desplazado a longitudes de onda más cortas (*blue shifted*), por lo que se lo asocia al pico M. Finalmente el componente C3 se asoció al pico T, cuya fluorescencia se debe a sustancias de naturaleza proteica (Fig. 29 y Tabla 9). Los picos M y T (ex/em) 290–310/ 370–410 y 270/340, respectivamente corresponden a MOD recién producida (autóctona) derivadas de la actividad microbológica, mientras que el pico A corresponde a fuentes de MOD más recalcitrantes y derivada de material terrestre humificado (Coble, 1996; Osburn et al., 2014).

Tabla 9: Ubicación de los principales componentes hallados en la MOD (ex: excitación; em: emisión).

Componente	Máx ex (nm)	Máx em (nm)	Nombre del componente	Fuente probable	Descripción	Referencias
C1	<260	450–500	Pico A	Terrestre	Compuestos de alto peso molecular, aromaticos y humicos. Material altamente procesado	Fellman et al., 2010; Stubbins et al., 2014
C2	310	410	Pico M	Terrestre, producción autoctona y procesamiento microbiano	Bajo peso molecular, asociado a la producción biológica	Stubbins et al., 2014
C3	275	340	Pico T	Terrestre, producción autoctona y procesamiento microbiano	Aminoácidos libres o unidos en proteínas, material proteico degradado	Fellman et al., 2010

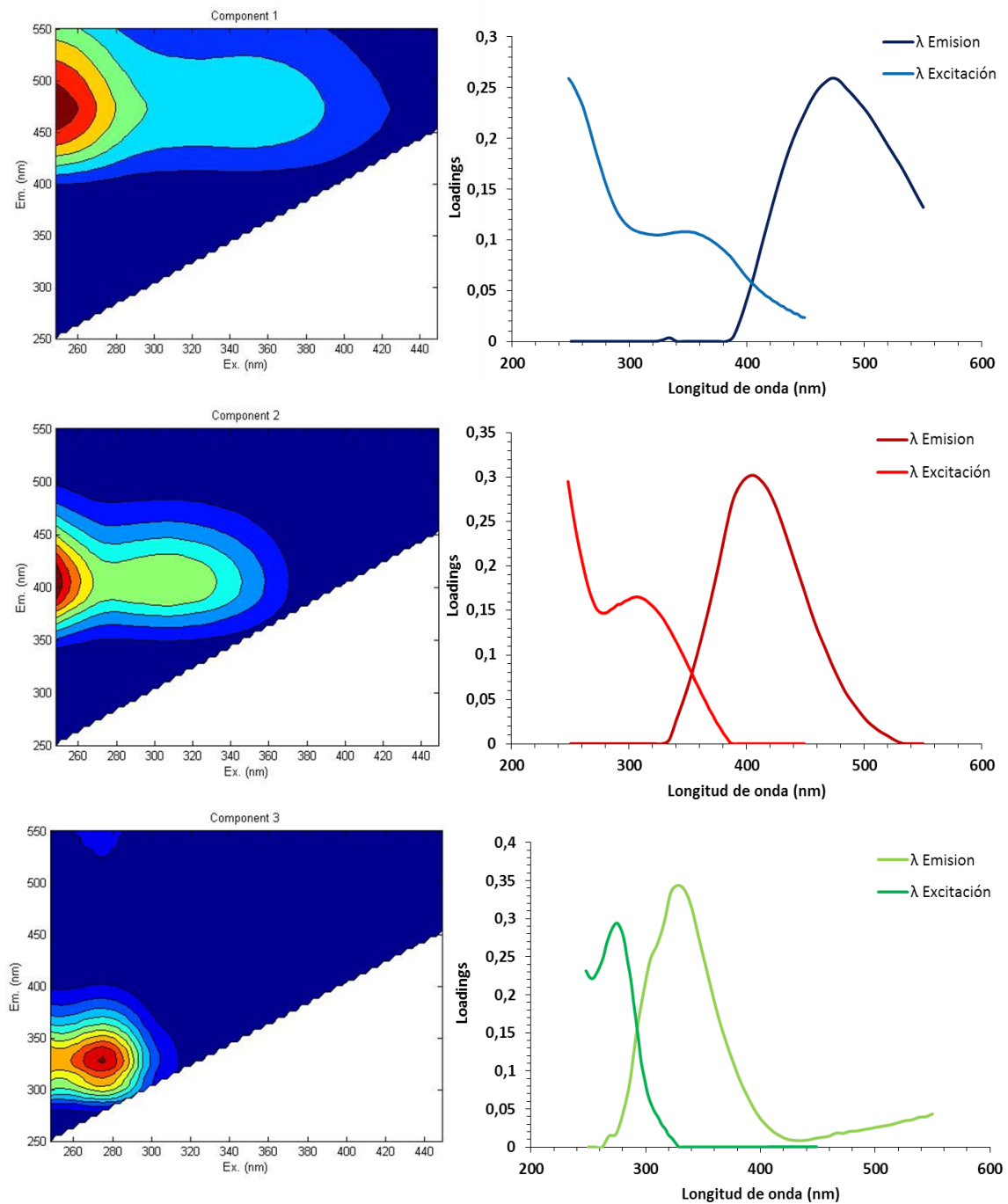


Fig. 29: Representación de las EEMS y los espectros de las cargas (Loadings) para los componentes (C1, C2 y C3) de PARAFAC.

A partir de la aplicación del PARAFAC se obtuvieron las intensidades de fluorescencia ($F_{\text{máx}}$) de cada uno de los tres componentes hallados para cada una de las muestras. En relación a esto, observamos que la intensidad de fluorescencia de los componentes C1 y C2 (componentes húmicos derivados del suelo y la producción autóctona, respectivamente), es significativamente menor en el F y en la Ll (prueba de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$). La

intensidad de fluorescencia para el C3, que se asocia a materiales lábiles de bajo peso molecular, difirió entre los “end members” siendo en F y Ll significativamente menor que el resto (prueba de Kruskal-Wallis, $p = 0,0140$) (Fig. 30). Observamos también altas intensidades de fluorescencia del componente C3 en las escorrentías y en el B₂.

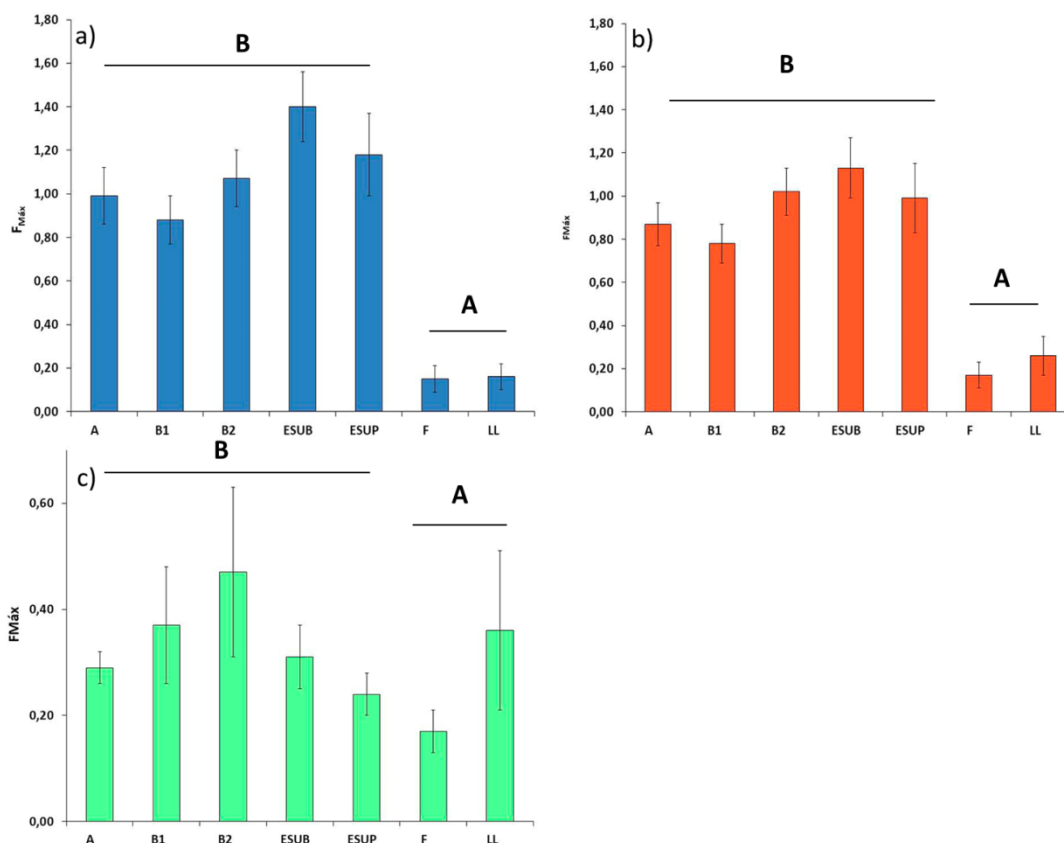


Fig. 30: Valores de intensidad de fluorescencia ($F_{m\acute{a}x}$) para cada uno de los componente a) C1, b) C2 y c) C3 resultantes de la aplicación del PARAFAC para el arroyo y los “end member” (donde A: arroyo, B1: Brazo 1, B2: Brazo 2, ESUP: escorrentía superficial, ESUB: escorrentía subsuperficial y Ll: lluvia).

La contribución relativa de los componentes húmicos C1 y C2 a la fluorescencia total, fue significativamente mayor en el A y sus tributarios que en F y Ll. Lo opuesto se observó en el F y Ll, donde el componente C3 presento la mayor fluorescencia relativa (prueba de Kruskal-Wallis, $p = 0,0117$) (Tabla 10).

Tabla 10: Contribución relativa de cada uno de los componentes a la fluorescencia total

"End member"	N	C1 (%)		C2 (%)		C3 (%)	
		Media	±EE	Media	±EE	Media	±EE
A	18	44,21	1,05	40,54	0,52	15,25	1,26
B1	17	42,77	1,82	38,91	1,63	18,32	3,01
B2	18	42,98	1,61	41,18	1,19	15,84	2,45
ESUB	7	49,32	1,41	39,34	1,12	11,34	2,31
ESUP	9	47,89	1,81	40,22	0,71	11,88	1,96
F	15	26,45	1,74	34,75	2,00	38,8	3,08
LL	10	18,97	1,90	35,08	2,18	45,95	2,92

Al analizar el cambio en la intensidad de fluorescencia de los tres componentes con el incremento del caudal, encontramos que los componentes C1 y C2 aumentan al aumentar el caudal tanto en el A ($R^2 = 0,48$; $p = 0,0030$ y $R^2 = 0,42$; $p = 0,0056$) como en el B₁ ($R^2 = 0,34$; $p = 0,0106$ y $R^2 = 0,23$; $p = 0,0337$) respectivamente (Fig. 31). No se observaron relaciones significativas entre los distintos componentes y el caudal para el B₂.

Se estudiaron las mismas relaciones entre los componentes de PARAFAC y el caudal, pero para cada uno de los eventos de los eventos de precipitación, y se encontraron resultados similares. Las sustancias de tipo húmico (componente C1 y C2) aumentan a medida que el caudal se incrementa durante la precipitación tanto para el evento de mayo ($R^2 = 0,59$; $p = 0,0003$ y $R^2 = 0,44$; $p = 0,0032$) como para el evento de julio ($R^2 = 0,59$; $p = 0,0005$ y $R^2 = 0,50$; $p = 0,0020$) respectivamente. El componente C3 no se relacionó con el caudal en el evento de mayo, pero sí (aunque más débilmente) en el evento de julio ($R^2 = 0,28$; $p = 0,0250$) (Fig. 32).

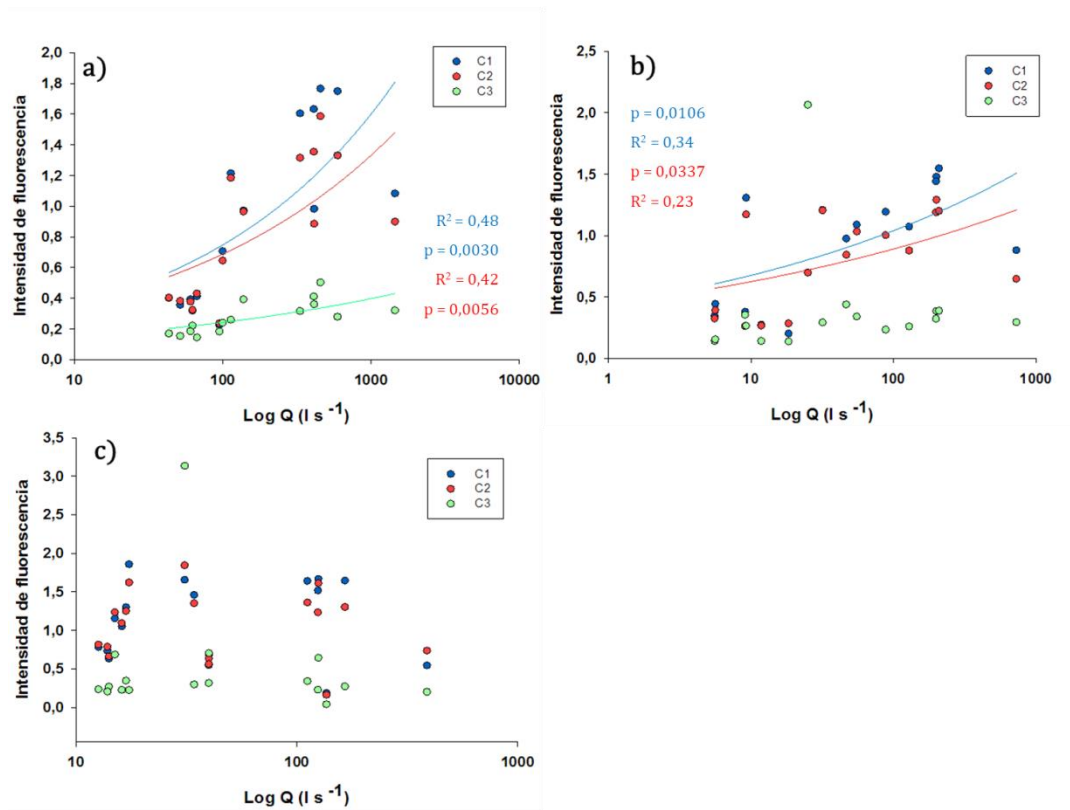


Fig. 31: Relación entre los componentes de PARAFAC y el caudal ($l s^{-1}$) para el a) A, b) B₁ y c) B₂

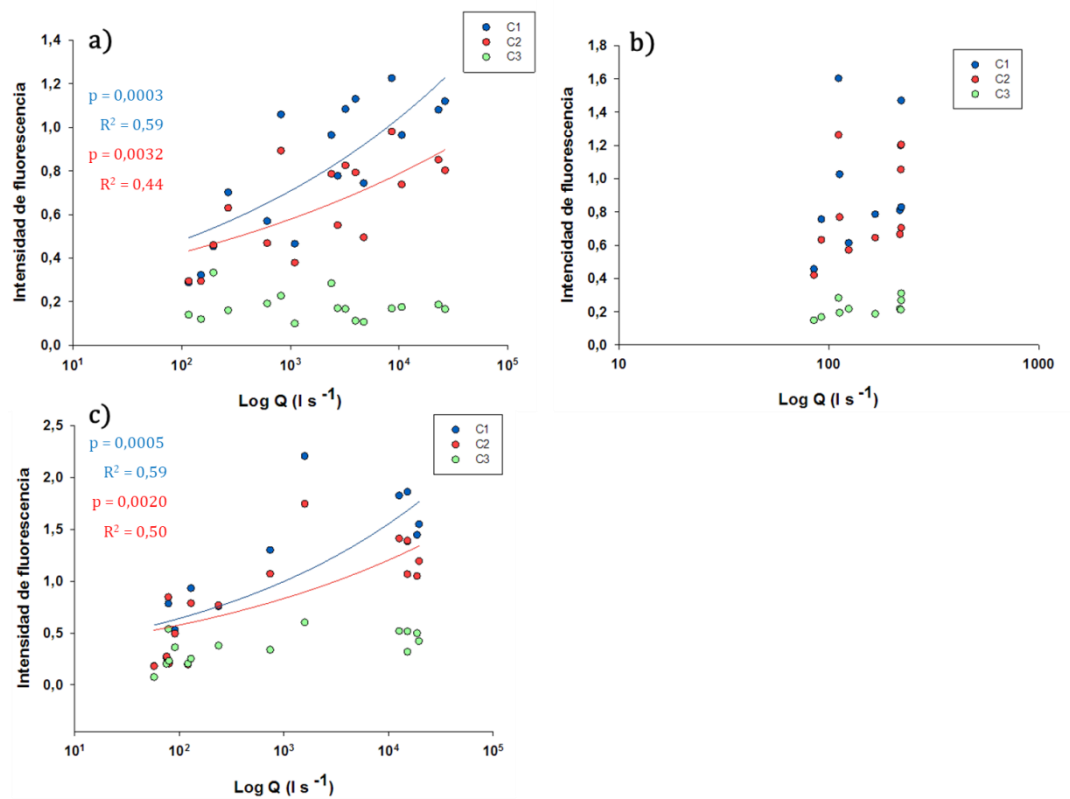


Fig. 32: Relación entre los componentes PARAFAC (C1, C2 y C3) con el caudal, para los eventos de precipitación de a) mayo de 2014, b) enero de 2015 y c) julio de 2015.

No observamos relaciones entre los componentes de PARAFAC y el caudal para el evento de enero (Fig. 33).

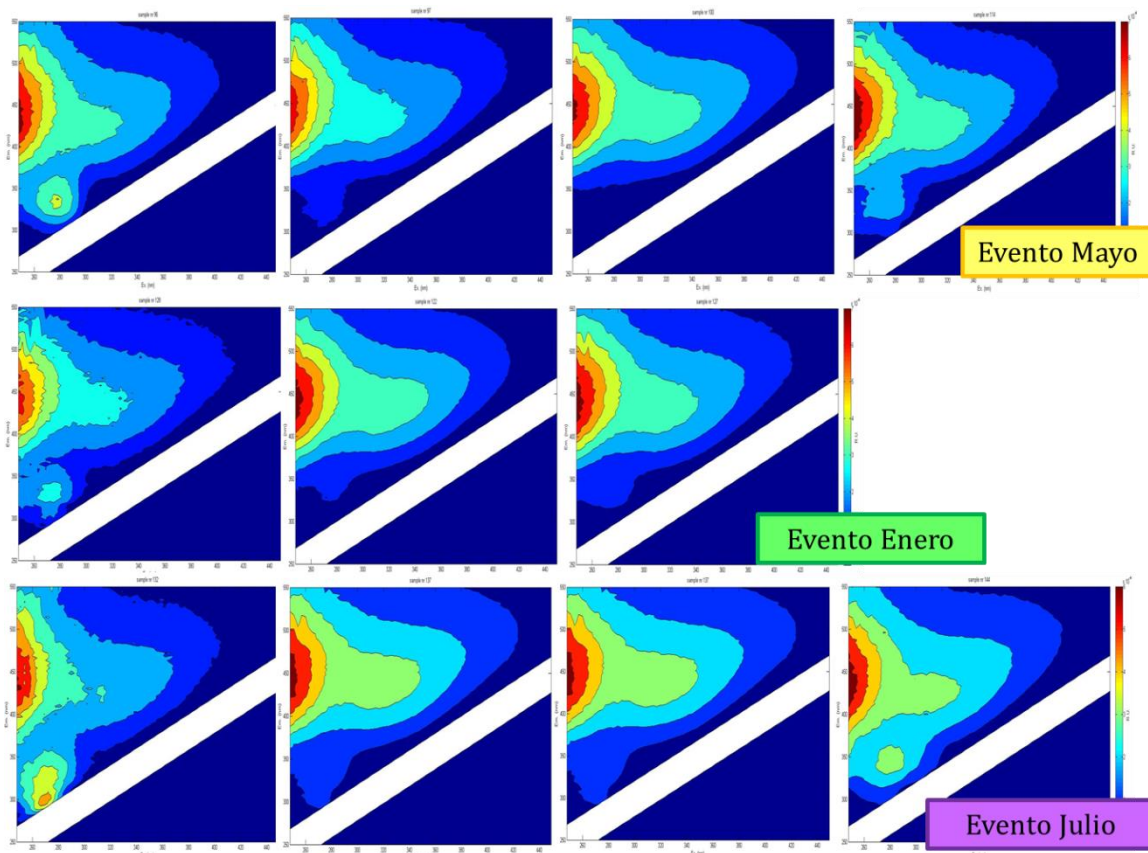


Fig. 33: Cambio en la fluorescencia a través del tiempo para los eventos de precipitación estudiados

Discusión

El PARAFAC es actualmente uno de métodos más frecuentemente usados para el análisis de la fluorescencia de la MOD (Murphy et al., 2014). La aplicación del PARAFAC permitió descomponer la señal de fluorescencia total (es decir, del conjunto de muestras) en componentes de fluorescencia individuales (Bro, 1997). Los componentes hallados mediante PARAFAC son únicos del set de datos analizados, por lo que resulta útil compararlos con los picos de fluorescencia clásicamente encontrados en la MOD de origen natural (Stubbins et al., 2014). A partir de la aplicación de este modelo obtuvimos tres componentes de fluorescencia, dos relacionados con sustancias húmicas (C1 y C2) y uno relacionado con compuestos de tipo proteico (C3). En relación a esto, el C1 se encuentra

en la región de emisión fluorescencia que habitualmente define al pico A, el componente C2 se encuentra en la región que define al pico M y el componente C3 en la región que corresponde al pico T (según la clasificación propuesta por Coble, 1996). De acuerdo con esto, determinamos que los componentes C1 y C3, corresponden a sustancias de tipo húmico mientras que el componente C2, es de tipo proteico. La mayoría de los modelos creados a partir de sets de datos de más de 100 muestras, han encontrado componentes de PARAFAC que corresponden con los picos B y T (proteicos) o los picos A y C (húmicos) o el pico M (húmico derivado de la actividad biológica dentro del arroyo) (Coble, 1996). Los componentes hallados en nuestro set de datos coinciden con los componentes más comúnmente encontrados y mencionados en la bibliografía (Fellman et al., 2009a; Catalán et al., 2013; García et al., 2015; Casas-Ruiz et al., 2017).

Los componentes húmicos (C1 y C2) fueron los componentes de PARAFAC mayoritarios en el A, sus tributarios (B₁ y B₂) y en las escorrentías. Sin embargo, el componente proteico (C3) fue el componente mayoritario en el F y la Ll, aunque se observaron altas intensidades en las escorrentías, lo que podría ser el resultado de la actividad biológica en el suelo. Como se mencionó anteriormente, la presencia de los componentes C1 y C2 (relacionados con las sustancias húmicas) en el arroyo y en los tributarios se debe a los procesos de lavado y erosión del suelo que ocurren durante los eventos de precipitación. No obstante, el C2 se ha asociado comúnmente la mezcla de compuestos reelaborados por la actividad microbiana (Stubbins et al., 2014). Por lo tanto, la señal debida este componente puede deberse a la producción de compuestos de tipo húmicos por la actividad microbiana (Ogawa et al., 2001; Kothawala et al., 2012; Shimotori et al., 2012; Asmala et al., 2014) o a la descomposición de las macrófitas (Catalán et al., 2013). Debido a las características de los arroyos pampeanos, los cuales son ambientes altamente productivos, la presencia de los componentes C2 y C3 derivados de la actividad microbiana podría ser indicador de la ocurrencia de estos procesos que dentro del arroyo.

Los compuestos proteicos en el agua subterránea y en la lluvia han sido descritos con anterioridad en la literatura relacionada con el tema (Kieber et al., 2006; Muller et al., 2008; Santos et al., 2009; Inamdar et al., 2012). Como mencionamos antes, la presencia de materiales proteicos en el agua subterránea se debe a la actividad biológica dentro del acuífero, debida a la degradación de la materia orgánica de los suelos antiguos (Fellman et al., 2014), mientras que el predominio de vientos débiles podría explicar la presencia de componentes húmicos y de tipo proteico en las muestras de lluvia (Kieber et al., 2006; Muller et al., 2008).

Los resultados obtenidos a partir de la aplicación del PARAFAC coinciden con los obtenidos mediante la aplicación del método *pick picking* (capítulo 6 y 7), que es un método cuantitativo mediante el cual se registran las intensidades de fluorescencia de los picos, dentro de regiones de interés predefinidas (Korak et al., 2014). Las regiones más comunes en agua dulce incluyen dos tipos de compuestos relacionados con los picos de tipo húmico (picos A y C) y dos relacionados con compuestos de tipo proteico (picos B y T) (Coble, 1996; Leenheer, 2009). Si bien los estudios basados en el *pick picking* siguen siendo amplia y exitosamente usados, la mayor resolución y significancia estadística obtenida al incorporar el PARAFAC mejora sustancialmente las interpretaciones de sets de datos de ecosistemas acuáticos, particularmente cuando son aplicados a distintas escalas, temporales o espaciales (Yamashita et al., 2010; Chen et al., 2013). Por lo tanto la mejor resolución del análisis de las EEMs aplicando PARAFAC, en comparación la técnica tradicional de *pick picking* permite una mejor cuantificación de los diferentes componentes de la FDOM y proporciona información más detallada sobre su calidad y composición (Jaffé et al., 2014). Si bien el PARAFAC se limita a medir una pequeña fracción de la MOD total (FDOM), la principal ventaja de su aplicación reside en el hecho de que es una técnica relativamente simple, económica, sensible, que permite la generación de grandes sets de datos en cortos periodos de tiempo (Jaffé et al., 2014).

Como mencionamos anteriormente, los componentes de PARAFAC son únicos para el conjunto de datos en el que se ejecuta el análisis, por lo que resulta necesario compararlos con los picos de fluorescencia clásicos definidos para la MOD de origen natural (Murphy et al., 2011; Stubbins et al., 2014). Las comparaciones de los componentes de PARAFAC entre los modelos desarrollados para diferentes ecosistemas se realizan comúnmente y pueden facilitar la interpretación de los datos. La disponibilidad de las características de los distintos componentes de PARAFAC comúnmente encontrados en la literatura facilita tales comparaciones (Murphy et al., 2011; Ishii & Boyer, 2012). Sin embargo, tales comparaciones deben realizarse con precaución ya que las características de fluorescencia pueden parecer "similares" entre los diferentes sistemas, pero pueden representar una MOD cuya composición es diferente (Murphy et al., 2011).

En los últimos años el PARAFAC ha experimentado un crecimiento notable en su uso y desarrollo en la biogeoquímica acuática, y probablemente continuará creciendo como una herramienta analítica muy popular y fácil de usar en los estudios de la dinámica de la MOD. Sin embargo, la relación entre las características de fluorescencia de los componentes de PARAFAC y su composición química real y características moleculares, es un aspecto que ha sido poco desarrollado (Jaffé et al., 2014).

La aplicación de PARAFAC permitió identificar tres compuestos, dos derivados de la producción dentro del arroyo y uno derivado del lavado del material del suelo. Si bien, tanto el *peak picking* como el PARAFAC dan lugar a resultados similares, el segundo método permite obtener información detallada en un menor periodo de tiempo. Además, la detección visual de picos mediante el *peak picking* no es obvia ya que algunos picos pueden aparecer superpuestos a otros picos. Sin embargo creemos que, dada la especificidad de los compuestos obtenidos mediante PARAFAC y la falta de un modelo global donde comparar los componentes hallados, este método debería emplearse en

conjunto con otras técnicas que permitan conocer las características químicas para la interpretación de los datos de fluorescencia de la MOD.

Capítulo 9 - Influencia del uso de suelo sobre la MOD

Introducción

Hynes, (1975) propuso que la morfología, geología, tipo de suelo y vegetación de la cuenca influyen en la estructura y función de los ecosistemas fluviales. Posteriormente, esta idea se expandió para incluir el uso de suelo entre los factores que afectan fuertemente las características de los arroyos. Anteriormente mencionamos la importancia de las características regionales, como el tipo de vegetación ribereña, el contenido orgánico del suelo, la presencia de macrófitas así como las características hidrológicas en la modulación de las propiedades químicas de la MOD en el arroyo Las Flores. Los arroyos de la región pampeana están sufriendo un rápido deterioro debido al impacto de la urbanización y las actividades agrícolas. El impacto de las actividades antrópicas podría reflejarse en cambios no solo en la cantidad de MOD, sino también en su composición química y dinámica.

La agricultura cubre aproximadamente el 40 % de la superficie de la tierra y afecta las características hidromorfológicas, biogeoquímicas y ecológicas de los sistemas fluviales (Graeber et al., 2015). La composición de la MOD puede ser afectada debido a una intensificación en el uso de suelo agrícola (Williams et al., 2010, Graeber et al., 2012). El uso de suelo en la cuenca puede influir en la concentración y propiedades ópticas de la MOD, directamente a través del aporte terrestre o indirectamente afectando la producción autóctona de MOD y las tasas de procesamiento fluvial de la materia orgánica (Williams et al., 2010). Los cambios en la cantidad y composición de la MOD exportada desde los suelos pueden afectar fuertemente a los ecosistemas acuáticos receptores, a través de cambios en su metabolismo, régimen de luz y procesos biológicos (Praire, 2008, Stanley et al., 2012). Particularmente, la conversión de tierras naturales en agrícolas se traduce en cambios en

el contenido de carbono y en la abundancia y forma de ligninas y taninos de la vegetación, al reemplazar las especies originales por granos o pasturas implantadas. También se ve afectado el transporte de la materia orgánica desde los suelos debido a la modificación de los flujos de agua superficial y subsuperficial. Finalmente, la agricultura puede afectar el procesamiento de la MOD en los arroyos al alterar la irradiancia y aumentar la carga de nutrientes y sedimentos (Williams et al., 2010; Stanley et al., 2012).

La revisión de la literatura ha mostrado que los niveles de MOD pueden aumentar, disminuir o no mostrar cambios con la agricultura, pero los resultados han sido más consistentes cuando se consideran las características ópticas de la MOD (Stanley et al., 2012). En arroyos pampeanos hemos observado que la MOD deriva de fuentes terrestres y microbianas aportadas por los distintos compartimientos (freático, escorrentía superficial y subsuperficial) que contribuyen al caudal del arroyo (Massetta et al., 2017). El cambio hacia un uso de suelo agrícola podría traducirse en una mayor proporción de MOD constituida por compuestos de tipo proteico, más degradable por la actividad biológica y foto-oxidación (Williams et al., 2010, Stanley et al., 2012).

El objetivo de este capítulo es determinar si del uso de suelo en arroyos pampeanos tiene efectos sobre la concentración y características químicas de la materia orgánica disuelta (MOD) en sus aguas.

Metodología

Se seleccionaron 41 arroyos de la provincia de Buenos Aires, siguiendo la metodología descrita en Feijó & Lombardo, 2007. Los arroyos muestreados se encuentran en las cuatro regiones hidrogeográficas propuestas por Frenguelli (1956) (Fig. 34):

Región 1: Río Salado y sus tributarios

Región 2: Arroyo Vallimanca

Región 3: Afluentes del Río Paraná y Río de la Plata

Región 4: Afluentes del Océano Atlántico

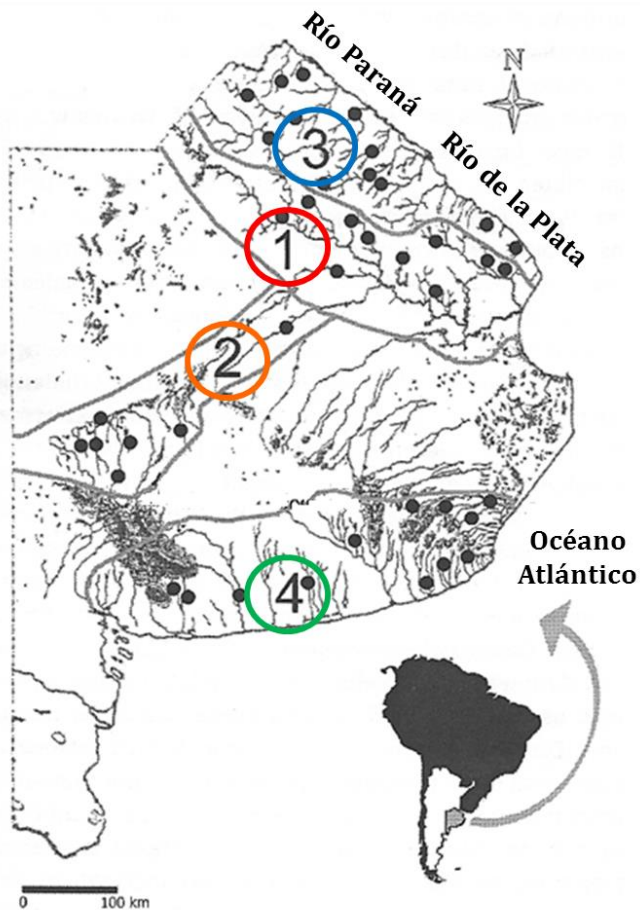


Fig. 34: Tomado de Feijoó & Lombardo (2007). Mapa de la provincia de Buenos Aires, indicando las regiones hidrogeográficas propuestas por Frenguelli (1956) y los arroyos muestreados (puntos negros).

Los arroyos seleccionados presentan un rango amplio de coberturas de uso agrícola, sin ingresos puntuales de contaminación y un bajo nivel de urbanización. Se realizaron tres campañas de muestreo en otoño, primavera de 2015 y verano de 2016, a fin de registrar la variabilidad estacional de las diferentes variables.

Para la determinación de la concentración de la MOD se utilizará la metodología detallada en el capítulo 4. Como se describió previamente la concentración de carbono orgánico disuelto (COD) es considerado un proxy de la concentración de MOD

El porcentaje de uso y cobertura del suelo, fueron determinados previamente en el marco del proyecto “Dinámica del fósforo en arroyos pampeanos: patrones espaciales y temporales e implicancias del cambio climático” (Hegoburu, en preparación). Para la determinación de los usos de suelo se delimitaron las cuencas de los arroyos mediante el uso de imágenes satelitales de las misiones Shuttle y Landsat, y luego se generaron modelos de elevación digital de terreno (DEM) lo que permitió establecer las divisorias de aguas para así definir, los límites de las cuencas. A partir de esta información se calculó la superficie de cada una de las cuencas y se clasificó la cobertura y el uso de suelo en cuatro categorías (agrícola, ganadero, vegetación natural y otros usos) utilizando imágenes satelitales de los sensores TM y ETM+ de la serie Landsat, las cuales fueron obtenidas de los bancos de imágenes disponibles en la web (University of Maryland, WISP, INPE, etc.) y del PRODITEL (Programa de Desarrollo e Investigación en Teledetección, Universidad Nacional de Luján). Las imágenes de las cuencas fueron posteriormente, georreferenciadas en base a las imágenes Landsat respectivas, y se clasificaron los usos de suelo a través de la interpretación visual (Marlenko, 2003), obteniéndose el área de la cuenca ocupada por cada tipo de uso y cobertura.

Tratamiento de los datos

Los datos (usos de suelo, concentración de COD e índices espectroscópicos y fluorimétricos) son reportados como media \pm error estándar para todas las variables. Las diferencias entre las variables se testearon aplicando una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Además se aplicó un análisis de componentes principales (PCA). El nivel de significancia considerado en todos los análisis fue de $\alpha = 0.05$.

Resultados

El uso agrícola fue el uso de suelo que predominó en todas las regiones, con un valor promedio de $49,65 \pm 8,74$ % para la región del Salado y $78,35 \pm 4,00$ % para la región del Atlántico (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,0323$). Luego del uso agrícola, el uso ganadero fue el uso con un mayor porcentaje de uso (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,0124$), mientras que la vegetación natural estuvo poco representada y no difirió entre las regiones (test de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$) (Fig. 35).

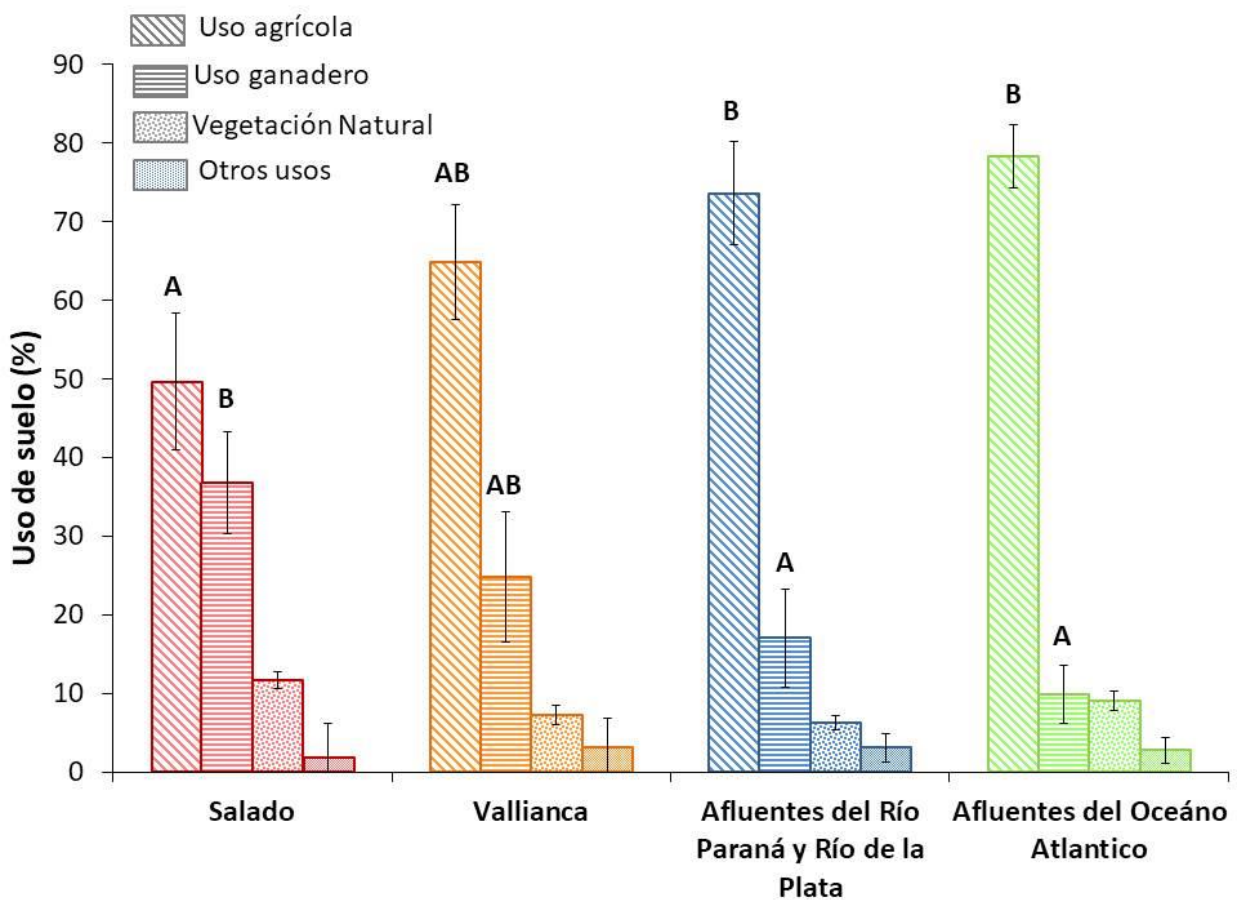


Fig. 35: Porcentaje de uso de suelo en cada una de las regiones

La concentración de carbono orgánico disuelto (COD) no difirió entre las campañas de primavera y verano (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,08$) pero si se observaron diferencias significativas entre regiones para la campaña de primavera (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,0017$), no observándose diferencias entre regiones en verano (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,47$). La concentración de COD en la región del Salado ($17,35 \pm 1,69 \text{ mg l}^{-1}$) fue significativamente mayor que en el resto de las regiones (Fig. 36).

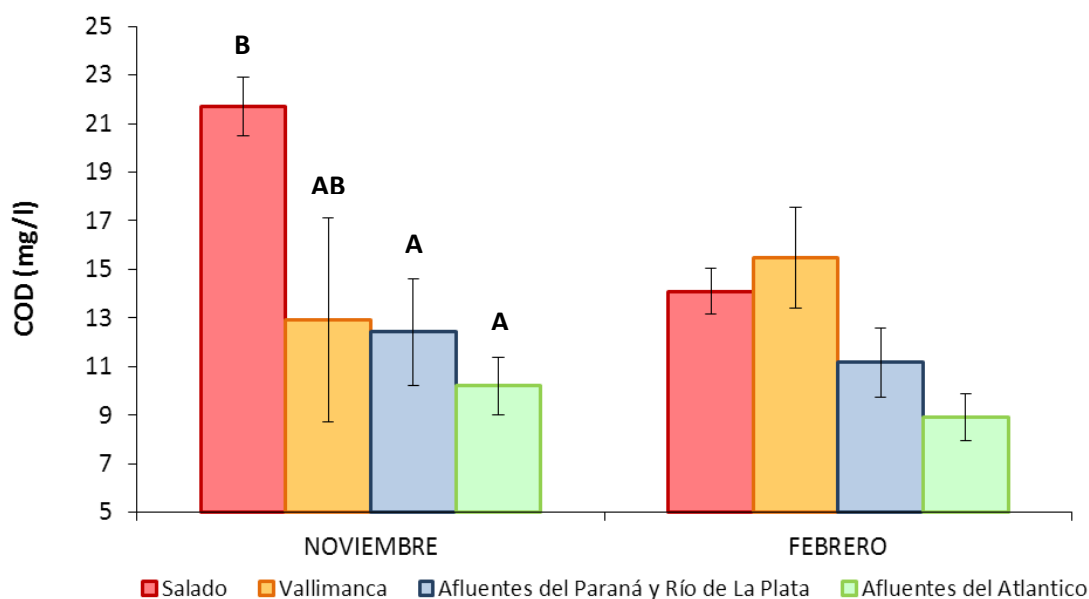


Fig. 36: Concentración de COD (mg L^{-1}) para las campañas de noviembre de 2015 y febrero de 2016, para las regiones hidrogeográficas

Al analizar los índices ópticos observamos que ni el BIX ni el FI, difieren entre las regiones (test de Kruskal-Wallis, $p > 0,05$). El HIX difirió entre las regiones y fue significativamente mayor en la región del saldo en relación al resto (test de Kruskal-Wallis, $p = 0,0002$) (Tabla 11).

Tabla 11: Medidas resumen, expresadas como media \pm E.E., para los índices ópticos (BIX, FI E HIX) indicadas por región.

Región del Río Salado	BIX	May '15	0,59 \pm 0,02	Región Afluentes de Río Paraná y Río de la Plata	BIX	May '15	0,61 \pm 0,02
		Nov '15	0,63 \pm 0,01			Nov '15	0,76 \pm 0,07
		Feb '16	0,77 \pm 0,05			Feb '16	0,95 \pm 0,09
	FI	May '15	1,61 \pm 0,02		FI	May '15	1,64 \pm 0,03
		Nov '15	1,56 \pm 0,02			Nov '15	1,63 \pm 0,04
		Feb '16	1,57 \pm 0,03			Feb '16	1,6 \pm 0,02
	HIX	May '15	8,78 \pm 0,71		HIX	May '15	6,18 \pm 0,93
		Nov '15	8,63 \pm 0,52			Nov '15	5,7 \pm 0,77
		Feb '16	5,05 \pm 0,86			Feb '16	3,26 \pm 0,68
Región Arroyo Vallimanca	BIX	May '15	0,55 \pm 0,01	Región Afluentes del Océano Atlántico	BIX	May '15	0,62 \pm 0,02
		Nov '15	1,06 \pm 0,21			Nov '15	0,8 \pm 0,03
		Feb '16	0,8 \pm 0,08			Feb '16	0,73 \pm 0,02
	FI	May '15	1,57 \pm 0,02		FI	May '15	1,61 \pm 0,02
		Nov '15	1,59 \pm 0,03			Nov '15	1,63 \pm 0,02
		Feb '16	1,55 \pm 0,02			Feb '16	1,59 \pm 0,02
	HIX	May '15	10,16 \pm 0,58		HIX	May '15	5,88 \pm 0,82
		Nov '15	4,64 \pm 1,24			Nov '15	3,45 \pm 0,36
		Feb '16	3,51 \pm 0,72			Feb '16	3,46 \pm 0,54

El análisis de componentes principales (PCA), permitió identificar tres componentes principales con autovalores $>$ a 1, que explican el 100 % de la variabilidad total. Las cargas para los tres componentes principales (CPs) se muestran en la tabla 12. El primer componente explica el 68 % de la varianza y la variable con el mayor peso positivo fue el uso de suelo agrícola y la variable con el mayor peso negativo la concentración de COD. El CP2 explica el 22 % de la varianza (90 % de la varianza acumulada) y las variables con mayor peso positivo fueron el BIX y el SUVA, mientras que vegetación natural fue la variable con menor peso (Tabla 12). El componente 1 separa los arroyos con un uso de suelo agrícola y el componente 2 separa aquellos arroyos con una MOD más reciente de aquellos con una MOD más degradada (regiones afluentes del río de Paraná y de la Plata y los afluentes del océano atlántico) (Fig. 37).

Tabla 12: Autovalores, varianza explicada y contribución de las variables a los cuatro componentes significativos del Análisis de Componentes Principales

Variables	CP1	CP2	CP3
COD (mg/l)	-0,38	0,12	-0,07
SUVA	-0,27	0,44	0,27
SR	0,28	-0,31	-0,49
FI	0,24	-0,09	0,75
BIX	0,22	0,53	-0,27
HIX	-0,38	0,1	-0,11
Agrícola	0,38	-0,03	0,07
Ganadería	-0,38	0,11	-0,06
Veg. Natural	-0,27	-0,48	-0,06
Otros usos	0,31	0,4	-0,14
Autovalores	6,76	2,2	1,04
% de la Varianza explicada	68%	22%	10%
% de la Varianza acum.	68%	90%	100%

Tabla 13: Matriz de correlación de las variables utilizadas para el Análisis de Componentes Principales.

	DOC (mg/l)	SUVA	SR	FI	BIX	HIX	Agrícola	Ganadería	Veg. Natural	Otros usos
DOC (mg/l)	1									
SUVA	0,8	1								
SR	-0,77	-0,95	1							
FI	-0,69	-0,33	0,14	1						
BIX	-0,38	0,04	0,19	0,03	1					
HIX	1	0,76	-0,73	-0,73	-0,4	1				
Agrícola	-0,99	-0,71	0,72	0,68	0,51	-0,99	1			
Ganadería	1	0,79	-0,77	-0,68	-0,41	1	-0,99	1		
Veg. Natural	0,56	0,01	-0,16	-0,39	-0,93	0,59	-0,67	0,58	1	
Otros usos	-0,66	-0,22	0,39	0,31	0,94	-0,68	0,76	-0,68	-0,97	1

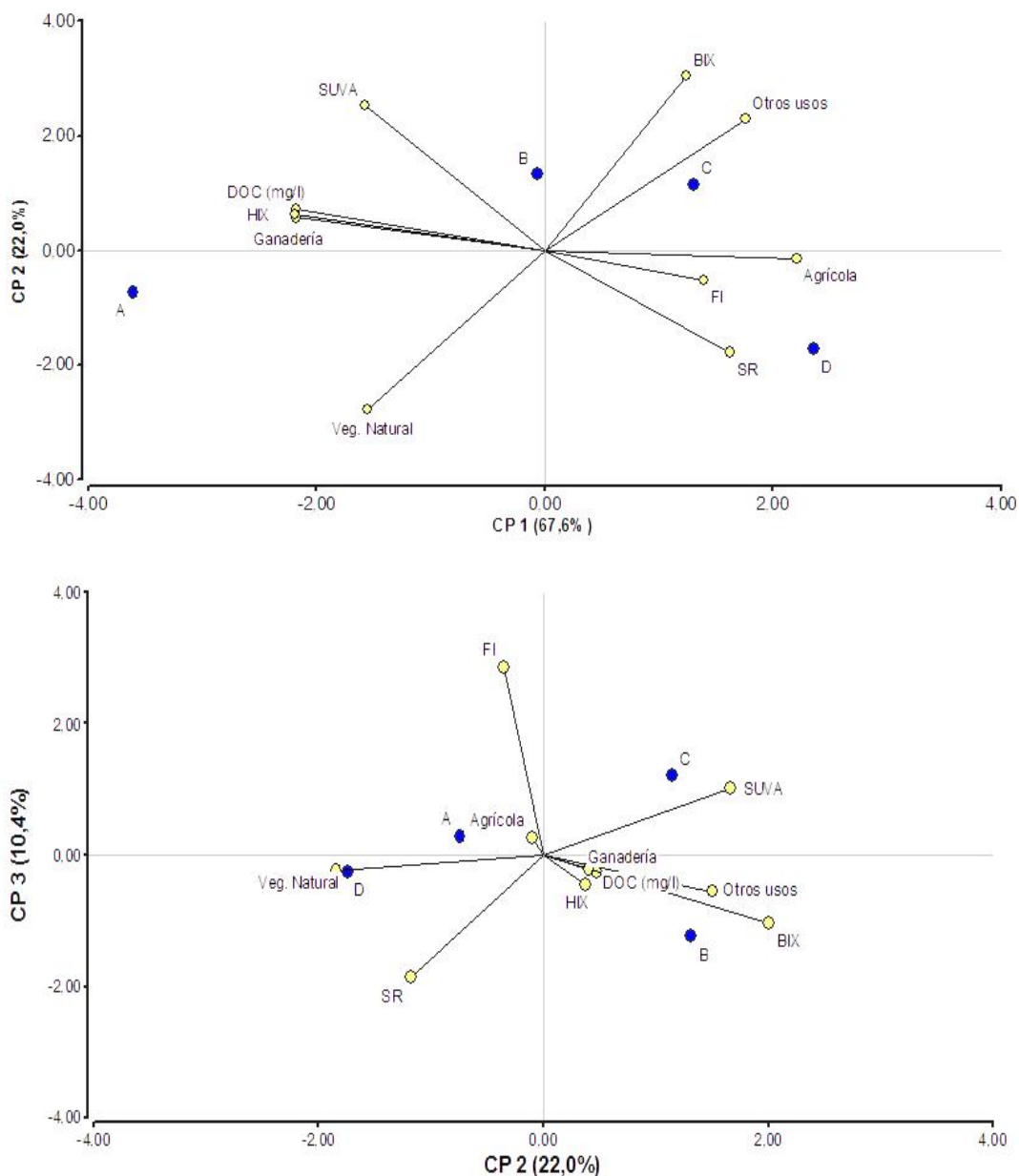


Fig. 37: Ubicación de los arroyos pertenecientes a la Región del Salado (A), Vallimanca (B), Afluentes del Río Paraná y Río de la Plata (C) y Afluentes del océano Atlántico (D) en el plano determinado por: (a) los componentes 1 y 2 y (b) componentes 1 y 3 del PCA.

Discusión

Nuestros resultados indican que la MOD de los arroyos sometidos a uso de suelo agrícola intensivo (afluentes del Río Paraná y Río de la Plata y afluentes del océano Atlántico), consiste en materiales recientemente producidos (alto BIX) derivados de fuentes mixtas microbianas y terrestres (FI $\sim 1,6$) y de bajo peso molecular (altos valores del S_R , inversamente relacionado con el peso molecular). Además, observamos que a medida que

aumenta el uso de suelo agrícola disminuye la concentración de COD (Williams et al., 2010; Stanley et al., 2012).

Como mencionamos anteriormente, en las últimas décadas la región pampeana está sufriendo un proceso de intensificación agrícola, con el reemplazo del sistema mixto agricultura-ganadería extensiva que prevaleció por muchos años por uno de cultivo continuo (Viglizzo et al., 2003). Según nuestros resultados el uso de suelo agrícola es el uso predominante en todos los arroyos estudiados. En relación a esto, estudios anteriores indican que la actividad agrícola puede afectar la composición de la MOD (Williams et al. 2010, Graeber et al. 2012). Sin embargo, observamos que los arroyos de las regiones 3 y 4 (Fig. 34), cuyo porcentaje de uso agrícola es mayor que en el resto de las regiones, presentan la menor concentración de COD. Además, estos arroyos se caracterizan por presentar una MOD de carácter más reciente, contrariamente a lo observado en los arroyos de la región 1 (Fig. 34) donde la MOD consiste en un material más degradado como lo indican los valores bajos del BIX y los valores más altos del SUVA. Los arroyos sometidos a un uso ganadero presentan una mayor concentración de COD y una MOD más degradada (HIX altos) y de mayor peso molecular (S_R bajo), probablemente resultado de la erosión del suelo a causa del pisoteo generado por el ganado (Osmond et al., 2007).

Los cambios en la cantidad y composición de la MOD que es exportada desde los suelos puede afectar a los ecosistemas acuáticos receptores modificando su metabolismo, régimen de luz, así también como la actividad de otros procesos biológicos y químicos (Praire, 2008; Stanley et al., 2012). Como mencionamos anteriormente, el proceso de intensificación agrícola impacta en la zona ribereña de los arroyos y ríos mediante el reemplazo de la vegetación herbácea original por cultivos o la introducción de ganado. Las actividades agrícolas aumentan los niveles de nutrientes en el agua, estimulando así la degradación de materiales lábiles e incluso puede facilitar la descomposición de compuestos más recalcitrantes (Guenet et al., 2010; Bodmer et al., 2016). Además, el

pisoteo generado por el ganado aumenta los procesos erosivos en la zona ribereña, aumentando la entrada de partículas orgánicas del suelo en el arroyo (Osmond et al., 2007). En consecuencia, el impacto de las actividades agrícolas debería reflejarse en una mayor entrada de MOD de origen terrestre y la aceleración del ciclo del carbono acuático, alterando la composición química y dinámica de la MOD, y en consecuencia la energía que ingresa en las redes tróficas.

Teniendo en cuenta el rol predominante de la MOD en los flujos de energía a través de los niveles tróficos, la implementación de prácticas de manejo de la zona ribereña podría ser una medida clave para mantener la dinámica y propiedades químicas de la MOD en arroyos Pampeana.

Nuestros resultados indican una tendencia hacia un origen microbiano en aquellos arroyos con un mayor uso agrícola. En relación a esto sería importante incluir en estudios futuros la relación entre la concentración de nutrientes en cada región en relación al tipo de uso de suelo, así como la degradabilidad de la MOD. El aumento en la concentración de nutrientes debido a las actividades agrícolas, promueve la actividad de los microorganismos (Farjalla et al., 2008; Wilson & Xenopoulos, 2009) por lo que es de esperar que la MOD esté integrada por compuestos más fácilmente degradables. Por ello, resulta crucial cuantificar la contribución relativa de las distintas fracciones de la MOD (biodegradable y recalcitrante) a la MOD total en un subconjunto de arroyos que representan un gradiente de uso de suelo agrícola.

Capítulo 10 - Discusión General

La integración de los métodos espectroscópicos con el monitoreo hidrobiogeoquímico detallado durante condiciones hidrológicas extremas proporciona un excelente desafío que permite capturar una perspectiva más amplia sobre la heterogeneidad de la composición de la MOD (Hood et al., 2006; Vidon et al., 2008). La MOD juega un rol central en el ambiente acuático. Si bien es importante cuantificar la cantidad de MOD (usualmente a través de la medición de la concentración de COD) también es importante conocer su composición química, ya que de ella dependerá su función y dinámica dentro del ecosistema (Liang & Singer, 2003; Minor et al., 2014). Entre otras funciones la MOD sirve como un atenuador de la luz en los sistemas acuáticos, como sustrato metabólico para las bacterias heterotróficas y como medio para transporte de metales traza. En los sistemas fluviales la MOD proviene de fuentes alóctonas y autóctonas, como la materia orgánica derivada del paisaje terrestre y de la producción primaria dentro del arroyo, respectivamente (Benner, 2007; Zhang et al., 2007; Kaplan et al., 2008; Yamashita & Jaffé, 2008; Garcia et al., 2015). Tanto la cantidad como la composición de la MOD varían espacial y temporalmente debido no sólo a su proximidad con el material de origen, sino también debido al procesamiento que ocurre en el ambiente (Hood et al., 2006).

El principal objetivo de esta tesis fue analizar el transporte y procesamiento de la MOD, y proponer un modelo descriptivo del transporte y transformación de la MOD en un tramo de un arroyo de cabecera pampeano. Analizar el procesamiento de la MOD dentro del arroyo requiere conocer su composición y cuáles son los principales “end members” que contribuyen al caudal.

Según los resultados obtenidos en el capítulo 6, las características químicas de la MOD en el arroyo Las Flores están principalmente moduladas por una contribución diferencial de los “end members” al caudal, dependiendo de las condiciones hidrológicas. Los índices de

absorbancia y fluorescencia calculados en esta tesis indican que la MOD del arroyo está constituida tanto por compuestos derivados de la actividad de los microorganismos como por materiales derivados del ambiente terrestre (Fig. 38). La MOD del arroyo consiste en compuestos de tipo proteico, derivados del aporte mayoritario del freático al caudal del arroyo en condiciones basales y en materiales más degradados, de tipo húmico, integrado por compuestos aromáticos y de alto peso molecular, que ingresan con la escorrentía durante los eventos de precipitación. Asimismo, la señal de fluorescencia debida a los compuestos húmicos podría originarse a partir de la descomposición de comunidades de macrófitas altamente productivas, en condiciones basales. A menudo se asume que el COD en ambientes lóticos está dominado por fuentes terrestres, con una clara prevalencia de materiales húmicos (Stanley et al., 2012; Stedmon & Cory, 2014), y que la MOD de origen autóctono deriva casi exclusivamente de las actividades microbianas y fitoplanctónicas (Catalán et al. 2013).

En el caso del arroyo Las Flores, los componentes similares a proteínas parecen tener una contribución más relevante al conjunto total de COD que en los sistemas forestales. En relación a esto Ejarque-Gonzalez, (2014) encontró un predominio de materiales húmicos, lo que refleja el drenaje de las cubiertas forestales de las partes altas de la cuenca en arroyos forestados del hemisferio norte. Similarmente, Hotchkiss et al. (2014) reportó un aumento del COD autóctono en arroyos de mayor orden (los cuales según la teoría del RCC, carecen de bosque de ribera), y lo adjudicó a una mayor actividad microbiana. Contrariamente, en los arroyos pampeanos el COD autóctono es más importante en las cabeceras. Por otra parte, en el arroyo Las Flores las macrófitas pueden proporcionar una fuente adicional y significativa de MOD, que es más biodegradable que la MOD derivada de las plantas superiores terrestres, y que por lo tanto es más biodisponible para el resto de la red trófica.

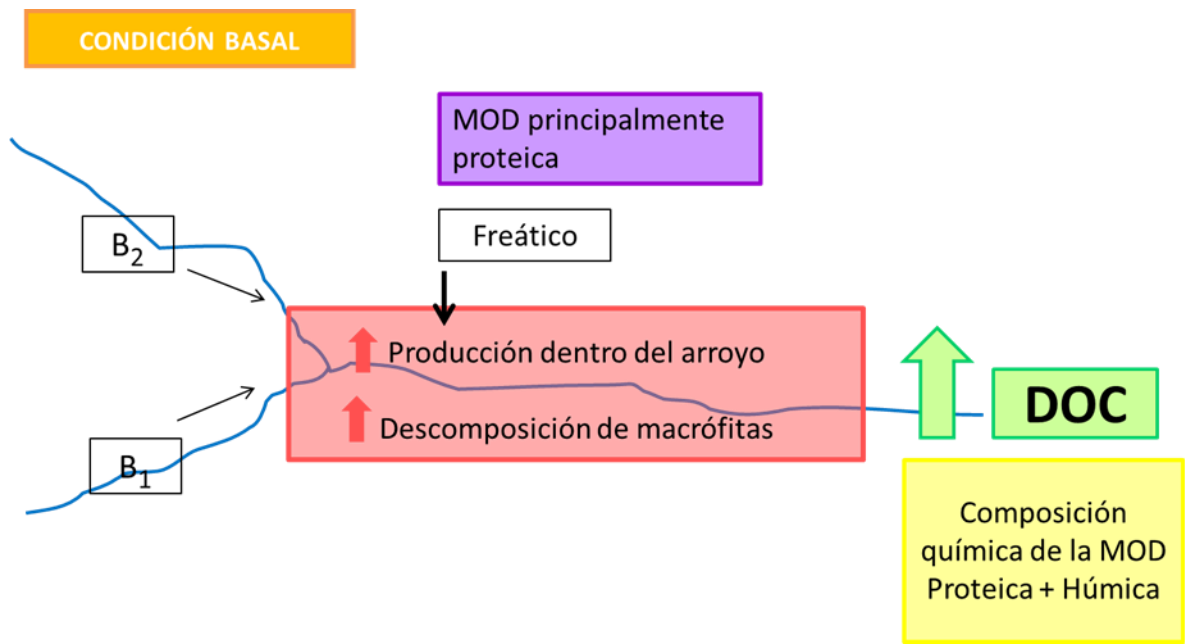


Fig. 38: Modelo descriptivo propuesto para el transporte y transformación de la MOD a escala de tramo, en condiciones basales

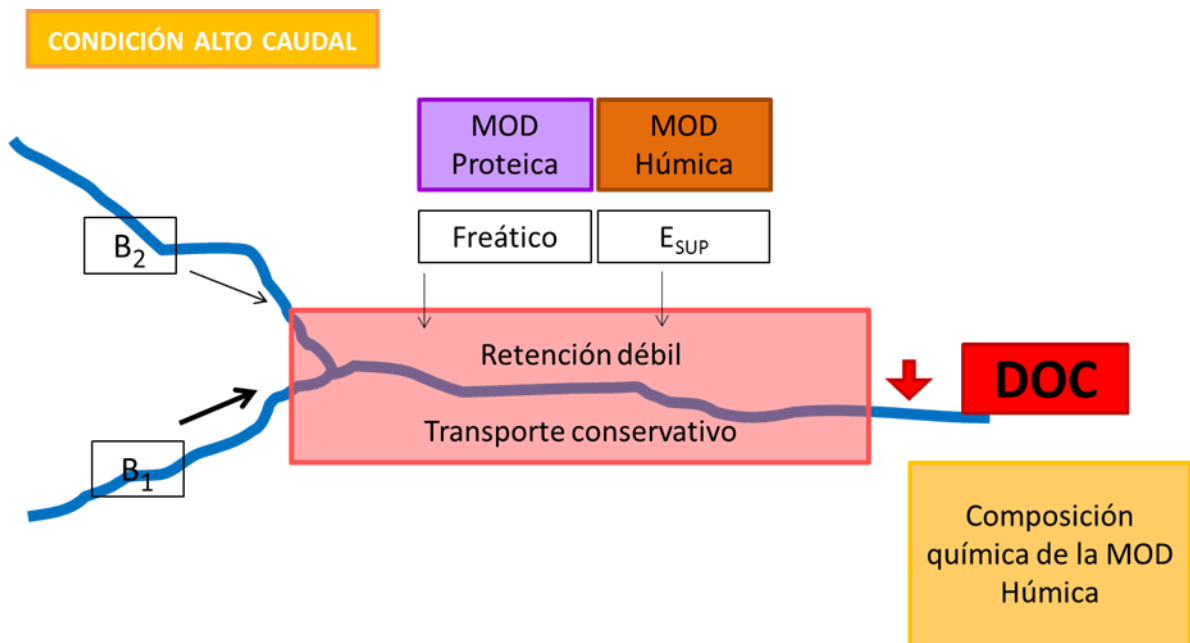


Fig. 39: Modelo descriptivo propuesto para el transporte y transformación de la MOD a escala de tramo, en condiciones de alto caudal.

El análisis de las EEMs, tanto a través de la aplicación del pick picking como del PARAFAC, permitió detectar la presencia de compuestos húmicos y proteicos, con una fluorescencia relativa mayoritaria del pico A y los picos M y T, que también contribuyeron a la fluorescencia total, aunque en menor grado (capítulo 6 y 8). El pico A se asocia a materiales húmicos derivados del paisaje, el pico T está relacionado con materiales similares a proteínas, mientras que el pico M se relaciona comúnmente con la MOD de bajo peso molecular, derivada de fuentes microbianas (Fellman et al., 2010; Stubbins et al., 2014). En este trabajo observamos que en condiciones basales, cuando el caudal del arroyo es principalmente mantenido por el aporte del agua subterránea (Capítulo 7), el COD consiste en una mezcla de compuestos derivados de la actividad microbiana (Fig. 35) y del paisaje terrestre transportado al arroyo durante los eventos de precipitación (Fig. 36). Además, en condiciones basales el tramo de estudio se comporta como una fuente importante de MOD. Nuestros resultados (capítulo 7) difieren de lo hallado para ríos del hemisferio norte, donde se observó un comportamiento altamente retentivo en condiciones de sequía (Butturini et al., 2016) o el transporte pasivo en condiciones basales (Casas-Ruiz et al., 2017). En términos de la composición de la MOD liberada en el tramo, observamos que hay una ganancia de materiales de alto peso molecular a caudales $< 400 \text{ l s}^{-1}$, lo que podría ser el resultado de la producción de COD autóctona dentro del arroyo. En relación a esto, es sabido que las bacterias son importantes consumidores de la MOD, y que son responsables de la reintroducción de carbono orgánico en las redes tróficas (Azam et al., 1983). Además, como se mencionó anteriormente pueden degradar y modificar la calidad de la MOD convirtiéndola en fracciones más lábiles (Cammack et al., 2004; Guillemette y del Giorgio, 2011) o más recalcitrantes (Ogawa et al., 2001) En este trabajo encontramos la generación de compuestos de alto peso molecular en el tramo de estudio, los cuales a partir de sus características químicas se asocian a compuestos de tipo húmico. Existen evidencias de la producción de compuestos húmicos a partir de compuestos lábiles preexistentes, o a través de la producción de nuevos compuestos, por

parte de organismos heterótrofos (Ogawa et al., 2001, Kothawala et al., 2012, Shimotori et al., 2012, Asmala et al., 2014; Hansen et al., 2016).

Por otra parte, en el arroyo hay una alta producción de compuestos tipo proteico (lábil) y compuestos de tipo húmico (recalcitrantes), siendo los primeros principalmente retenidos (Butturini et al., 2016). En este sentido, la MOD más lábil derivada del lixiviado de vegetación herbácea y las algas, así como de la degradación de las macrófitas, se consume rápidamente. Debido a esto, es probable que no persista en el medio ambiente y, por tanto, salvo en condiciones específicas, no se espera que constituya una fracción significativa de la MOD en aguas naturales (Hansen et al. 2008). Esto último explicaría la mayor proporción húmicos en el arroyo.

Si bien nuestros datos no contemplan las condiciones de alto caudal (ya que solo un caso pudo aplicarse al balance de masas para los datos de fluorescencia, capítulo 7), es interesante destacar que aun cuando hay una retención neta de COD en el tramo, las eficiencias de liberación de compuestos de tipo proteicos y de tipo húmico, son del ~50 % aproximadamente. En el capítulo 6, encontramos que tanto los compuestos de tipo húmicos y proteicos están presentes en la escorrentía, siendo los proteicos posiblemente originados a partir de la degradación del pastizal, hojas y exudados de raíces (Yano et al., 2004; Bernal et al., 2005; Guarch-Ribot & Butturini, 2016). En relación a esto, proponemos un origen alóctono para los compuestos húmicos y proteicos que se observan aguas abajo del tramo de estudio, en condiciones de alto caudal. Esta idea además apoyada por los resultados obtenidos a partir del seguimiento de los eventos de precipitación, en donde hay un aumento de materiales de origen alóctono desde la ribera a medida que el caudal aumenta (Capítulo 6).

Los resultados hallados en esta tesis ponen de manifiesto la importancia de las características regionales, como por ejemplo el tipo de vegetación ribereña, el contenido orgánico del suelo y la presencia de macrófitas así como la hidrología en la modulación de

las propiedades químicas de la MOD en el arroyo Las Flores. Consideramos que el uso de parámetros ópticos cualitativos resulta más eficiente cuando son evaluados conjuntamente, en lugar de individualmente, para identificar firmas espectrales ópticas únicas que pueden ser vinculada a las fuentes original de la MOD (Hansen et al., 2016).

Actualmente, la región pampeana está experimentando un proceso de intensificación agrícola que afecta a la zona ribereña de arroyos y ríos a través de la sustitución de la vegetación herbácea original por cultivos o la introducción de ganado. Las actividades agrícolas aumentan los niveles de nutrientes disueltos en el agua, estimulan la degradación de los materiales lábiles dentro de los arroyos, e incluso facilitan la descomposición de compuestos más recalcitrantes debido a la mayor actividad bacteriana (Guenet et al., 2010; Bodmer et al., 2016) y por consiguiente puede conducir a cambios en las estructura trófica (Kamjunke et al., 2015b). Además, la presencia de ganado aumenta los procesos de erosión en la zona ribereña y el aporte de partículas orgánicas del suelo en el arroyo que se desprenden debido al pisoteo generado por los animales (Osmond et al., 2007). En consecuencia, el impacto de las actividades antrópicas podría reflejarse en una mayor entrada de MOD terrestre y en la aceleración del ciclo del carbono acuático, alterando la composición química y la dinámica de la MOD. Por otra parte, es importante señalar el impacto que el efluente de la industria láctea podría tener sobre la MOD en el B₂. Estudios previos han reportado un incremento en la concentración de nutrientes (nitrógeno y fosforo) a causa del vuelco de efluentes derivados de las industrias lácteas (Danalewich et al., 1998). Si bien en esta tesis no se ha medido la concentración de nutrientes, los resultados hallados por nuestro grupo de trabajo (Feijoó et al., en preparación) concuerdan con lo reportado por Danalewich et al. (1998), encontrándose concentraciones mayores de amonio y fosforo en el B₂, en relación al resto de los “end member”. Como se ha mencionado a lo largo de esta tesis, el aumento en la concentración de nutrientes puede estimular la actividad de los microorganismos (Farjalla et al., 2008; Wilson & Xenopoulus, 2009) dando como resultado, un impacto similar al que ha sido

observado a causa de las actividades agrícolas, como por ejemplo el incremento en la proporción de compuestos derivados de la producción biológica (por ejemplo una mayor proporción de compuestos de tipo proteicos) y la tendencia hacia un origen microbiano de la MOD, lo que se traduciría en una MOD integrada por materiales lábiles y más recientes. Sin embargo, los resultados hallados en esta tesis no reflejan el impacto del efluente industrial sobre las propiedades de la MOD, por lo que resultaría útil en el futuro incorporar ensayos de biodegradabilidad de la MOD, así también como ensayos que relacionen la concentración de nutrientes con las características y degradabilidad de la MOD.

Teniendo en cuenta el papel principal de la MOD en el flujo de energía a través de los niveles tróficos, la implementación de prácticas de manejo en la zona ribereña puede ser una medida clave para mantener la dinámica y propiedades químicas de la MOD en los arroyos pampeanos.

Capítulo 11- Conclusiones generales

Caracterización hidrológica del arroyo Las Flores

- La hidrología del arroyo Las Flores está caracterizada por un flujo unidireccional desde el freático hacia el arroyo.
- Durante los eventos de tormenta, el nivel de diferencia entre el arroyo y el freático, se redujo pero nunca se invirtió. Estos resultados sugieren que no existe una verdadera zona hiporreica en el arroyo.

Caracterización de la MOD y cambios con la hidrología

- Las características químicas de la MOD en el arroyo Las Flores dependen de la contribución de los distintos “end members” dependiendo de las condiciones hidrológicas.
- La MOD del arroyo consiste en compuestos de tipo proteicos y de tipo húmicos, y varía según la contribución proporcional de los “end members” que aportan al arroyo bajo las distintas condiciones hidrológicas. Los compuestos proteicos derivan de la contribución del freático y de la producción dentro del arroyo en condiciones basales, mientras que los compuestos húmicos derivan de los procesos de lavado y erosión del suelo que tienen lugar durante los eventos de precipitación. Sin embargo, parte de los compuestos húmicos podrían derivar también de la degradación de las macrófitas, abundantes en el arroyo Las Flores.
- Durante los eventos de precipitación aumenta el aporte de materiales alóctonos, derivados del material vegetal y de los suelos.
- Las propiedades químicas de la MOD en el arroyo cambian en su composición hacia predominio de las fracciones húmicas durante los eventos de precipitación.

Balance de masas

- En condiciones basales el tramo se comporta como un reactor donde predominan los procesos de producción dentro del arroyo, actuando como una fuente de MOD. Sin embargo, en condiciones de alto caudal el tramo se comporta como un conducto pasivo o bien retiene débilmente.
- En el tramo se generan tanto materiales lábiles (tipo proteicos) como refractarios (tipo húmico). Los materiales lábiles son preferentemente retenidos, mientras que los materiales refractarios son exportados aguas abajo.
- Al final del tramo predominan los compuestos refractarios y más degradados.

PARAFAC

- La aplicación de PARAFAC permitió identificar tres compuestos, dos derivados de la producción dentro del arroyo y uno derivado del lavado del material del suelo.
- El PARAFAC debería emplearse en conjunto con otras técnicas que permitan conocer las características químicas para la interpretación de los datos de fluorescencia de la MOD.

Influencia del uso de suelo sobre la MOD

- La MOD de los arroyos sometidos a un uso de suelo agrícola intensivo (afluentes del Río Paraná y Río de la Plata y afluentes del océano Atlántico), consiste en materiales frescos, recientemente producidos (alto BIX).
- La MOD de los arroyos sometidos a un uso ganadero consiste en materiales más degradados de mayor peso molecular (S_R bajo), probablemente resultado de la erosión del suelo a causa del pisoteo generado por el ganado.

Anexo Capítulo 7: PCA de los principales iones conservativos utilizados en la determinación de los “end members”.

A continuación se muestra los resultados del análisis de componentes principales (PCA) aplicado a los datos de los iones conservativos, obtenidos en un muestreo preliminar para la determinación de los principales “end members” que contribuyen al caudal (Tabla A1).

Tabla A1: Datos empleados en el PCA

Muestra	N	cond (μS)	HCO ₃ (mg/l)	Cl (mg/l)	SO ₄ (mg/l)	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	Na (mg/l)	K (mg/l)
A	1	141,3	53,4	8,9	2,6	6,8	1,6	10	9,1
ESUP	1	105,3	45,8	8,9	2,7	8	1,9	3,2	12,9
ESUB	1	134,7	45,8	6,7	2,4	9,4	1,9	3,6	7
P	1	18,56	3,8	2,2	2	0,9	0,1	2,4	0,1
F	1	766	137,3	4,4	3	10,5	4,2	31,1	3,1
B1	1	127,9	45,8	6,7	4,2	8,1	1,8	5,3	9,2
B2	1	183,3	76,3	6,7	5	7,1	1,7	15,2	11,2

El análisis de componentes principales (PCA), permitió identificar dos componentes principales con autovalores > a 1, que explican el 85, 5% de la variabilidad total. Las cargas para los tres componentes principales (CPs) se muestran en la tabla A2. El primer componente explica el 54,9 % de la varianza y las variables con el mayor fueron la conductividad eléctrica (μS/cm), Ca (mg/l), Mg (mg/l) y Na (mg/l). El CP2 explica el 30,6 % de la varianza y las variables con mayor el Cl y el K, (Tabla A2).

Tabla A2: Autovalores, varianza explicada y contribución de las variables a los dos componentes significativos del Análisis de Componentes Principales

Variables	CP1	CP2
Cl (mg/l)	0,04	0,59
SO4 (mg/l)	0,16	0,3
Ca (mg/l)	0,38	0,27
Mg (mg/l)	0,47	-1,50E-04
Na (mg/l)	0,43	-0,19
K (mg/l)	0,03	0,63
cond (uS)	0,44	-0,23
HCO3 (mg/l)	0,47	-0,03
Autovalores	3,612407	2,239438
% de la varianza explicada	54,88630	30,60065
% de la varianza acum.	54,88630	85,4869

Tabla A3: Matriz de correlación de las variables utilizadas para el Análisis de Componentes Principales.

	HCO3 (mg/l)	Cl (mg/l)	SO4 (mg/l)	Ca (mg/l)	Mg (mg/l)	Na (mg/l)	K (mg/l)
HCO3 (mg/l)	1						
Cl (mg/l)	0,04	1					
SO4 (mg/l)	0,34	0,21	1				
Ca (mg/l)	0,73	0,49	0,29	1			
Mg (mg/l)	0,95	0,12	0,18	0,85	1		
Na (mg/l)	0,95	-0,2	0,27	0,49	0,83	1	
K (mg/l)	0,03	0,91	0,51	0,43	0,06	-0,21	1

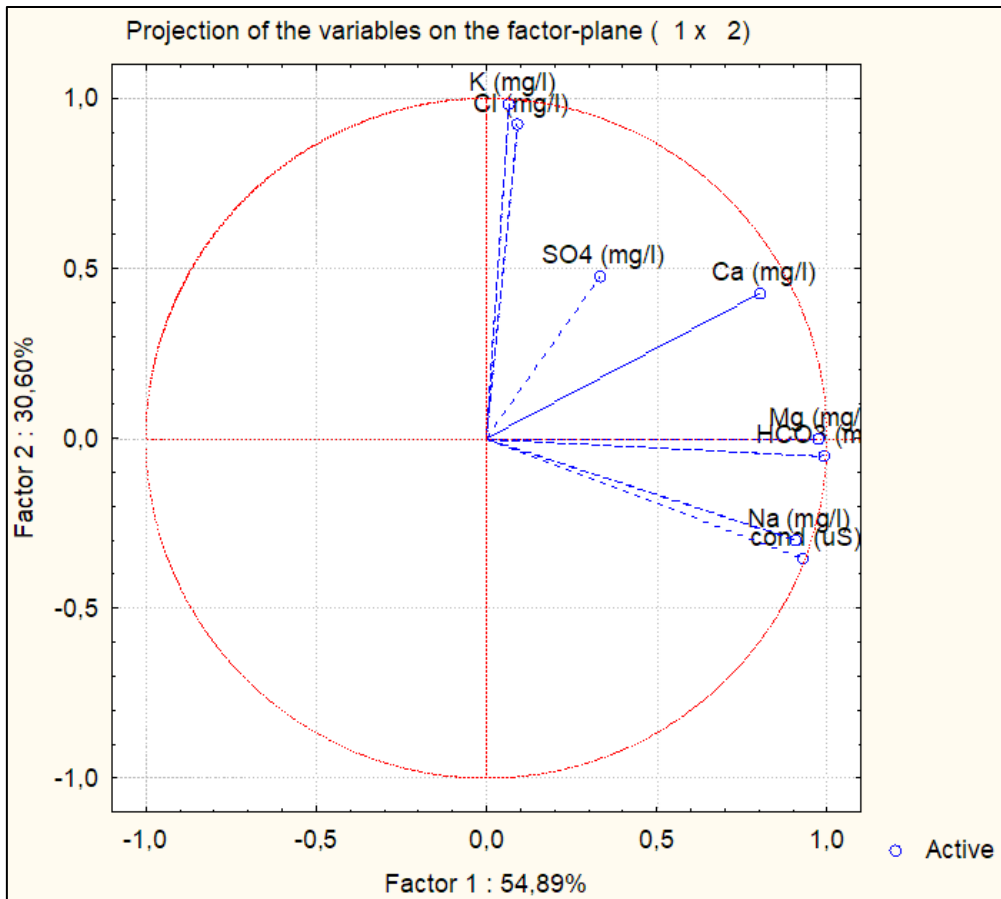


Fig. A1: Ubicación de los principales iones conservativos empleados en la determinación de los “end members” que contribuyen al caudal

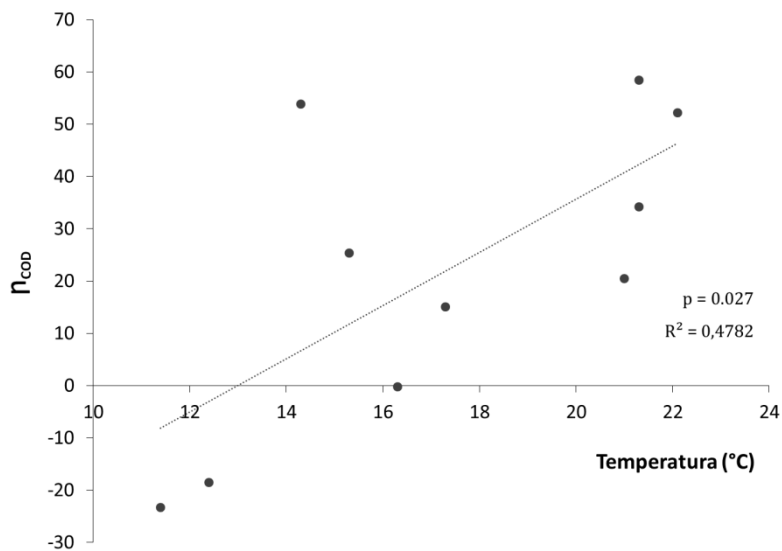


Fig. A2: Relación entre la eficiencia de liberación de COD (η_{COD}) y la temperatura (°C).

Bibliografía

Acuña, V., C. Vilches & A. Giorgi, 2011. As productive and slow as a stream can be: the metabolism of Pampean stream. *Journal of the North America Benthological Society* 30: 71–83.

Aiken, G. R., 2014. Fluorescence and dissolved organic matter: A chemist's perspective, p. 35–74. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds, and R. G. M. Spencer [eds.], *Aquatic organic matter fluorescence*. Cambridge Univ. Press

Aiken, G. R. & J. Leenheer, 1993. Isolation and chemical characterization of dissolved and colloidal organic matter. *Chemistry and Ecology* 8: 135-151.

Aitkenhead-Peterson, J. A., W. H. McDowell & J. C. Neff, 2003. Sources, production, and regulation of allochthonous dissolved organic matter inputs to surface waters. In: Findlay S, Sinsabaugh R (eds) *Aquatic ecosystems: interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, Elsevier, pp 26–70.

Allan, J.D., 1995. *Stream ecology: Structure and functioning of running waters*. Chapman and Hall, London, ISBN 0 412 35530 2.

Amon, R. M. W. & R. Benner, 1996. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 41: 41–51.

Arreghini, S., L. de Cabo, R. Seoane, N. Tomazin, R. Serafin, & A.F. de Iorio, 2005. Influence of rainfall on the discharge nutrient concentration and loads of a stream of the "Pampa Ondulada" (Buenos Aires, Argentina). *Limnetica* 24: 225-236.

Arreghini, S., L. de Cabo, R. Seoane, N. Tomazin, R. Serafini & A. F. de Iorio, 2007. A methodological approach to water quality assessment in an ungauged basin, Buenos Aires, Argentina. *GeoJournal* 70: 281–288.

Asmala, E., R. Autio, H. Kaartokallio, C. A. Stedmon & D. N. Thomas, 2014. Processing of humic-rich riverine dissolved organic matter by estuarine bacteria: effects of predegradation and inorganic nutrients. *Aquatic Sciences* 76:451–463.

Aufdenkampe, A. K., E. Mayorga, P. A. Raymond, J. M. Melack, S. C. Doney, S. R. Alin, E. A. Rolf & Y. Kyungsoo, 2011. Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere. *Frontiers in Ecology and the Environment* 9: 53-60.

Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyerreil & F. Thingstad, 1983. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology-Progress Series* 10: 257–263.

Battin, T. J., L. A. Kaplan, S. Findlay, C. S. Hopkinson, E. Marti, A. I. Packman, J. D. Newbold, & F. Sabater, 2008. Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks. *Nature Geoscience* 1:95–100. Bernal S,

- Balcarczyk, K. L., J. B. Jones, Jr., R. Jaffe, & N. Maie, 2009. Stream dissolved organic matter bioavailability and composition in watersheds underlain with discontinuous permafrost. *Biogeochemistry* 94: 255–270.
- Benner, R., 2002. Chemical composition and reactivity. In D. A. Hansell & C. A. Carlson, editors, *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, chapter 3, pages 59–90. Academic Press, Elsevier Science, New York.
- Bernal, S., A. Butturini & F. Sabater, 2005. Seasonal variations of dissolved nitrogen and DOC:DON ratios in an intermittent Mediterranean stream. *Biogeochemistry* 75: 351–372.
- Bernal, S., A. Butturini & F. Sabater, 2002. Variability of DOC and nitrate responses to storms in a small Mediterranean forested catchment. *Hydrology and Earth System Sciences* 6: 1031–1041.
- Bertilsson, S. & J. B. Jones, 2003. Supply of dissolved organic matter to aquatic ecosystems: Autochthonous sources. In Findlay S, R. Sinsabaugh (eds) *Aquatic ecosystems: interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, Elsevier, 3–24
- Bertilsson, S. & L. J. Tranvik, 2000. Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnology and Oceanography*, 45:753–762.
- Bierozza, M., A. Baker & J. Bridgeman. New data mining and calibration approaches to the assessment of water treatment efficiency. *Advances in Engineering Software*, 44: 126–135.
- Boehme, J., P. Coble, R. Conmy, & A. Stovall-Leonard, 2004. Examining CDOM fluorescence variability using principal component analysis: Seasonal and regional modeling of three-dimensional fluorescence in the Gulf of Mexico. *Marine Chemistry* 89: 3–14.
- Bodmer P., M. Heinz, M. Pusch, G. Singer & K. Premke, 2016. Carbon dynamics and their link to dissolved organic matter quality across contrasting stream ecosystems. *Science of the Total Environment* 553: 574–586.
- Boyle, E. S., N. Guerriero, A. Thiallet, R. Del Vecchio & N. V. Blough, 2009. Optical Properties of Humic Substances and CDOM: Relation to Structure. *Environmental science & technology* 43: 2262–2268.
- Bro, R., 1997. PARAFAC. Tutorial and applications. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 38:149–171.
- Buchan, A., G. R. LeCleir, C. Gulvik & J. M. González, 2014. Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms. *Nature Reviews Microbiology* 12: 686–698.
- Buffam, I., J. N. Galloway, L. K. Blum, & K. J. McGlathery, 2001. A stormflow/baseflow comparison of dissolved organic matter concentrations and bioavailability in an Appalachian stream. *Biogeochemistry* 53: 269–306.
- Burrows, R. M., J. B. Fellman, R. H. Magierowski & L. A. Barmuta, 2013. Allochthonous dissolved organic matter controls bacterial carbon production in old-growth and clearfelled headwater streams. *Freshwater Science* 32: 821–836.

- Butturini, A. & F. Sabater, 2000. Seasonal variability of dissolved organic carbon in a Mediterranean stream. *Biogeochemistry* 51: 303–321
- Butturini, A & F. Sabater, 2002. Variability of DOC and nitrate responses to storms in a small Mediterranean forested catchment. *Hydrology and Earth System Sciences* 6: 1031–41.
- Butturini, A., S. Bernal & Sabater F, 2005. Modelling storm events to investigate the influence of the stream–catchment interface zone on stream biogeochemistry. *Water Resources Research* 41: W08418, doi:10.1029/2004WR003842.
- Butturini, A., F. Gallart, J. Latron, E. Vazquez & F. Sabater, 2006. Cross-site comparison of variability of DOC and nitrate c–q hysteresis during the autumn–winter period in three Mediterranean headwater streams: a synthetic approach. *Biogeochemistry* 77: 327–349.
- Butturini, A., A. Guarch, A. M. Román, A. Freixa, S. Amalfitano, Fazi & E. Ejarque, 2016. Hydrological conditions controls in situ DOM retention and release along a Mediterranean river. *Water Research* 99: 33–45.
- Cammack, W. K. L., J. Kalff, Y. T. Prairie & E. M. Smith, 2004. Fluorescent DOM in lakes: Relationships with heterotrophic metabolism. *Limnology and oceanography* 49: 2034–2045.
- Carpenter, S. R., J. J. Cole, M. L. Pace, M. Van de Bogert, D. L. Bade, D. Bastviken, et al., 2005. Ecosystem subsidies: Terrestrial support of aquatic food webs from ¹³C addition to contrasting lakes. *Ecology* 86: 2737–2750.
- Casas-Ruiz J. P., J. Tittel, D. von Schiller, N. Catalán, B. Obrador, L. Gómez-Gener, E. Zwirnmann, S. Sabater & R. Marce, 2016. Drought-induced discontinuities in the source and degradation of dissolved organic matter in a Mediterranean river. *Biogeochemistry* 127: 125–139.
- Casas-Ruiz J. P., N. Catalán, L. Gómez-Gener, D. von Schiller, B. Obrador, D. N. Kothawala, P. López, S. Sabater & R. Marcé, 2017. A tale of pipes and reactors: Controls on the in-stream dynamics of dissolved organic matter in rivers. *Limnology and oceanography*: 1–10.
- Catalán, N., B. Obrador, M. Felip & J. Ll. Pretus, 2013. Higher reactivity of allochthonous vs. autochthonous DOC sources in a shallow lake. *Aquatic Science* 75: 581–593.
- Chen, W., P. Westerho, J. A. Leenheer & K. Booksh, 2003. Fluorescence excitation - Emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental science and technology* 37: 5701–5710.
- Christophersen N. & R. P. Hooper, 1992. Multivariate-Analysis of Stream Water Chemical-Data - the use of Principal Components-Analysis for the End-Member Mixing Problem. *Water Resources Research* 28: 99–107.
- Coble, P. G., R. G. M. Spencer, A. Baker & D. M. Reynolds, 2014. Aquatic Organic Matter Fluorescence p. 75–122. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds, and R. G. M. Spencer [eds.], *Aquatic organic matter fluorescence*. Cambridge Univ. Press.

- Coble, P.G., 2007. Marine optical biogeochemistry: the chemistry of ocean color. *Chemical Reviews* 107: 402–418.
- Coble, P. G, 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* 51:325–346
- Coble, P. G., S. A. Green, N. V. Blough, R. B. Gagosian, 1990. Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature* 348: 432–435.
- Cole, J. J., Y. T. Prairie, N. F. Caraco, W. H. McDowell, L. J. Tranvik, R. G. Striegl, C. M. Duarte, P. Kortelainen, J. A. Downing, J. J. Middelburg & J. Melack, 2007. Plumbing the global carbon cycle: Integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. *Ecosystems* 10: 171–184.
- Cory, R. M., M. P. Miller, D. M. McKnight, J. J. Guerard & P. L. Miller, 2010. Effect of instrument-specific response on the analysis of fulvic acid fluorescence spectra. *Limnology and oceanography Methods* 8: 67–78.
- Cory, R. M., D. M. McKnight, Y. P. Chin, P. Miller & C. L. Jaros, 2007. Chemical characteristics of fulvic acids from Arctic surface waters: Microbial contributions and photochemical transformations. *Journal of Geophysical Research: Biogeoscience* 112: doi:10.1029/2006JG000343.
- Cory, R. M. & D. M. McKnight, 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology* 39: 8142–8149.
- Danalewich, J. R., T. G. Papagiannis, R. L. Belyea, M. E. Tumbleson & L. Raskin, 1998. Characterization of dairy waste streams, current treatment practices, and potential for biological nutrient removal. *Water Research* 32: 3555–3568.
- Del Giorgio, P. & M. L. Pace, 2008. Relative independence of dissolved organic carbon transport and processing in a large temperate river: the Hudson River as both pipe and reactor. *Limnology and Oceanography* 53:185–197.
- Del Vecchio, R., Blough, N. V., 2002. Photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in natural waters: Kinetics and modeling. *Marine Chemistry* 78: 231–253.
- Di Baldassarre G. & A. Montanari, 2009. Uncertainty in river discharge observations: a quantitative analysis. *Hydrology and Earth System Sciences* 13: 913–921.
- Ejarque Gonzalez, E., 2014. From flood to drought: Transport and reactivity of dissolved organic matter along a Mediterranean river. PhD, Dissertation Universitat de Barcelona.
- Elosegui, A., A. Butturini & J. Armengol, 2009. El caudal circulante. En: Elosegi A. y Sabater S. (Eds.). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Fundación BBVA. 1era edición. 51-69 pp.
- Elosegui, A. & A. Butturini, 2009. El transporte de los materiales inorgánicos disueltos y particulados. En: Elosegi A. y Sabater S. (Eds.). *Conceptos y técnicas en ecología fluvial*. Fundación BBVA. 1era edición. 85-96 pp.

- Farjalla V. F., C. C. Marinho, B. M. Faria, A. M. Amado, F. A. Esteves, R. L. Bozelli & D. Giroldo, 2009. Synergy of Fresh and Accumulated Organic Matter to Bacterial Growth. *Microbial Ecology* 57: 657–666.
- Feijoó, C. S., P. Gantes, A. Giorgi, J. J. Rosso & E. Zunino, 2012. Valoración de la calidad de ribera en un arroyo pampeano y su relación con las comunidades de macrófitas y peces. *Biología Acuática* 27: 113–128.
- Feijoó, C. S., A. Giorgi & N. Ferreiro, 2011. Phosphate uptake in a macrophyte-rich Pampean stream. *Limnologia* 41: 285–289.
- Feijoó, C. & R. Lombardo, 2007. Baseline water quality and macrophyte assemblages in Pampean streams: a regional approach. *Water Research* 41: 1399-1410.
- Feijoó, C. S., A. Giorgi, M. E. García & F. Momo, 1999. Temporal and spatial variability in streams of a pampean basin. *Hydrobiologia* 394: 41–52.
- Fenchel T., 1986. The Ecology of Heterotrophic Microflagellates. In: Marshall K.C. (eds) *Advances in Microbial Ecology*. *Advances in Microbial Ecology*, vol 9. Springer, Boston, MA.
- Fellman, J. B., R. G. M. Spencer, P. A. Raymond, N. E. Pettit, G. Skrzypek, P. J. Hernes & P. F. Grierson, 2014. Dissolved organic carbon biolability decreases along with its modernization in fluvial networks in an ancient landscape. *Ecology* 95:2622–2632.
- Fellman, J. B., E. Hood & R. G. M. Spencer, 2010. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems: A review. *Limnology and Oceanography* 55: 2452-2462
- Fellman, J. B., E. Hood, R.T. Edwards, D.V. D'Amore, 2009a. Changes in the concentration, biodegradability, and fluorescent properties of dissolved organic matter during stormflows in coastal temperate watersheds. *Journal of Geophysical Research* 114: G01021.
- Fellman, J. B., E. Hood, D. V. D'Amore, R. T. Edwards & D. White, 2009b. Seasonal changes in the chemical quality and biodegradability of dissolved organic matter exported from soils to streams in coastal temperate rainforest watersheds. *Biogeochemistry* 95: 277-293.
- Fellman, J. B., D. V. D'Amore, & E. Hood, 2008. An evaluation of freezing as a preservation technique for analyzing dissolved organic C, N, and P in surface water samples. *Science of the Total Environment* 392: 305–312.
- Filella, M., 2008. Freshwaters: which NOM matters? *Environmental Chemistry Letters* 7:21-35.
- Findlay, S., 2010. Stream microbial ecology. *Journal of the North American Benthological Society* 29: 170–181.
- Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L., 2003. Interactivity of Dissolved Organic Matter. Findlay, S.E.G., Sinsabaugh, R.L. (Eds). *Academic Press, San Diego*, 512 pp.

Freguelli, J., 1956. Rasgos generales de la hidrografía de la Provincia de Buenos Aires. LEMIT. Serie II 62: 1-19.

Gabor, R. S., A. Baker, D. M. McKnight, and M. P. Miller. 2014. Fluorescence indices and their interpretation, p. 303–338. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds, and R. G. M. Spencer [eds.], Aquatic organic matter fluorescence. Cambridge Univ. Press.

Gantes, H. P., 2000. Estructura y dinámica de la vegetación en arroyos de llanura. PhD Thesis. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

García, R. D., M. Reissig, C. P. Queimaliños, P. E. García & M. C. Dieguez, 2015. Climate-driven terrestrial inputs in ultraoligotrophic mountain streams of Andean Patagonia revealed through chromophoric and fluorescent dissolved organic matter. *Science of the Total Environment* 521–522: 280–292.

Graeber, D., I. G. Boëchat, F. Encina-Montoya, C. Esse, J. Gelbrecht, G. Goyenola, B. Gücker, M. Heinz, B. Kronvang, M. Meerhoff, J. Nimptsch, M. T. Push, R. C. S. Silva, D. von Schiller & E. Zwirnmann. 2015. Global effects of agriculture on fluvial dissolved organic matter. *Scientific Reports* 5: 16328 | DOI: 10.1038/srep16328

Graeber, D., J. Gelbrecht, M. T. Pusch, C. Anlanger & D. von Schiller, 2012. Agriculture has changed the amount and composition of dissolved organic matter in Central European headwater streams. *Science of the Total Environment* 438 : 435–446.

García, J. V., P. Gantes, L. Giménez, C. Hegoburu, N. Ferreiro, F. Sabater & C. Feijoó. 2017. High nutrient retention in chronically nutrient-rich lowland streams. *Freshwater Science* 36: 26-40

Ghersa C. M., M. A. Martínez-Ghersa & R. J. C. León, 1998. Cambios en el paisaje pampeano y sus efectos sobre los sistemas de soporte de la vida. Pp. 38-71. En: *Hacia una agricultura más productiva y sostenible en la pampa argentina*. Orientación Gráfica Editora S.R.L., Buenos Aires.

Giling, D. P., M. R. Grace, J. R. Thompson, R. Mac Nally & R. M. Thompson, 2014. Effect of native vegetation loss on stream ecosystem processes: dissolved organic matter composition and export in agricultural landscapes. *Ecosystems* 17: 82–95.

Giorgi, A., C. Feijoó, & G. Tell, 2005. Primary producers in a Pampean stream: temporal variation and structuring roles. *Biodiversity and Conservation* 14: 455-477.

Gonsior, M., B. M. Peake, W. T. Cooper, D. Podgorski, J. D'Andrilli, W. J. Cooper, 2009. Photochemically induced changes in dissolved organic matter identified by ultrahigh resolution fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Environmental Science and Technology* 43: 698–703.

Gordon, N. D., T. A. McMahon, B. L. Finlayson, C. J. Gippel & R. J. Nathan, 1992. *Stream Hydrology: An Introduction for Ecologists*. John Wiley & Sons, Chichester. ISBN: 978-0-470-84358-1.

- Gordon, E. S. & M. A. Goni, 2003. Sources and distribution of terrigenous organic matter delivered by the Atchafalaya river to sediments in the northern Gulf of Mexico. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67: 2359–2375.
- Green, S. A. & N. V. Blough, 1994. Optical absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter in natural waters. *Limnology and Oceanography* 39: 1903–1916.
- Guarch-Ribot, A & A. Butturini, 2016. Hydrological conditions regulate dissolved organic matter quality in an intermittent headwater stream. From drought to storm analysis. *Science of the Total Environment* 571: 1358–1369.
- Guenet, B., M. Danger, L. Abbadie & G. Lacroix, 2010. Priming effect: bridging the gap between terrestrial and aquatic ecology. *Ecology* 91: 2850–2861
- Guillemette, F. & P. del Giorgio, 2011. Reconstructing the various facets of dissolved organic carbon bioavailability in freshwater ecosystems. *Limnology and Oceanography* 56: 734–748.
- Godsey, S. E., J. W. Kirchner. & D.W. Clow, 2009. Concentration–discharge relationships reflect chemostatic characteristics of US catchments. *Hydrological Processes* 23: 1844–1864.
- Hall, R. O., G. E. Likens & H. M. Malcom, 2001. Trophic basis of invertebrate production in 2 streams at the Hubbard Brook Experimental Forest. *Journal of the North American Benthological Society* 20: 432–447.
- Harshman, R., 1984. “How can I know if it’s real?” A catalog of diagnostics for use with three-mode factor analysis and multidimensional scaling, pp. 566-591. In H. G. Law, C. W. Snyder, J. A. Hattie, and R. P. McDonal [eds.], *Research methods for multimode data analysis*. Praeger.
- Hansen, A. M., T. E. C. Kraus, B. A. Pellerin, J. A. Fleck, B. D. Downing & B. A. Bergamaschi, 2016. Optical properties of dissolved organic matter (DOM): Effects of biological and photolytic degradation. *Limnology and oceanography* 61: 1015–1032.
- Hansell, D. A., C.A. Carlson, D. J. Repeta & R. Schlitzer, 2009. Dissolved organic matter in the ocean: A controversy stimulates new insights. *Oceanography* 22: 202–211.
- Harvey, J. W., & B. J. Wagnert, 2003. Quantifyin hydrologic interactions between streams and their subsurface hyporheic zones. In *Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter*. S.Findlay & R. L. Sinsabaugh (eds.). 4–44 pp.
- Hegoburu, C., en preparación. Dinámica del fósforo en arroyos pampeanos: patrones espaciales y temporales e implicancias del cambio climático. PhD Thesis. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- Hynes, H. B. N., 1975. The stream and its valley. *Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Verhandlungen* 19: 1-15.

- Helms, J. R., A. Stubbins, J. D. Ritchie, E. C. Minor, D. J. Kieber, & K. Mopper, 2008. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 53: 955-969
- Hood, E., M. N. Gooseff, & S. L. Johnson, 2006. Changes in the character of stream water dissolved organic carbon during flushing in three small watersheds, Oregon. *Journal of geophysical research* 111: 1-8.
- Hood, E., J. Fellman, R. G. M. Spencer, P. J. Hernes, R. Edwards, D. D'Amore, & D. Scott, 2009. Glaciers as a source of ancient and labile organic matter to the marine environment. *Nature* 462: 1044-1047.
- Hooper, R. P., N. Christophersen & N. E. Peters, 1990. Modeling Streamwater Chemistry as a Mixture of Soilwater End-Members - an Application to the Panola Mountain Catchment, Georgia, Usa. *Journal of Hydrology*, 116: 321-343.
- Huguet, A., L. Vacher, S. Relexans S. Saubusse, J. M. Froidefond & E. Parlanti, 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry* 40:706-719.
- Hulme, M. & N. Sheard, 1999. Climate Change Scenarios for Argentina. In Climatic Research Unit, Norwich, UK, 6pp.
- Inamdar, S., N. Finge, S. Singh M. Mitchell D. Levia H. Bais D. Scott & P. McHale, 2012. Dissolved organic matter (DOM) concentration and quality in a forested mid-Atlantic watershed, USA. *Biogeochemistry* 108:55-76.
- Ishii, S. K. L. & T. H Boyer, 2012. Behavior of reoccurring PARAFAC components in fluorescent dissolved organic matter in natural and engineered systems: A critical review. *Environmental Science and Technology* 46: 2006-2017.
- Jaffé, R., K. M.Cawley & Y. Yamashita, 2014. Applications of Excitation Emission Matrix Fluorescence with Parallel Factor Analysis (EEM-PARAFAC) in Assessing Environmental Dynamics of Natural Dissolved Organic Matter (DOM) in Aquatic Environments: A Review. DOI: 10.1021/bk-2014-1160.ch003. In *Advances in the Physicochemical Characterization of Dissolved Organic Matter: Impact on Natural and Engineered Systems*. F. Rosario-Ortiz, (ed), University of Colorado, Boulder, Colorado; sponsored by the ACS Division of Environmental Chemistry, Inc. DOI: 10.1021/bk-2014-1160
- Jones, J. B., Jr & P. J. Mulholland, 1998. Carbon Dioxide Variation in a Hardwood Forest Stream: An Integrative Measure of Whole Catchment Soil Respiration. *Ecosystems* 1: 183-196.
- Kaiser, K. & K. Kalbitz, 2012. Cycling downwards – dissolved organic matter in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 52: 29-32.
- Kamjunke, N., P. Herzsprung & T. R. Neua, 2015. Quality of dissolved organic matter affects planktonic but not biofilm bacterial production in streams. *Science of the Total Environment* 506-507: 353-360

- Kaplan, L. A., T. N. Wiegner, J. D. Newbold, P. H. Ostrom & H. Gandhi, 2008. Untangling the complex issue of dissolved organic carbon uptake: a stable isotope approach. *Freshwater Biology* 53: 855–864.
- Kieber, R. J., X. Zhou & K. Mopper, 1990. Formation of carbonyl compounds from UV-induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnology and Oceanography* 35: 1503–1515.
- Korak, J. A., A. D. Dotson, R. S. Summers & F. L. Rosario-Ortiz, 2014. Critical analysis of commonly used fluorescence metrics to characterize dissolved organic matter. *Water Research* 49:327–338.
- Kothawala, D. N., K. R. Murphy, C. A. Stedmon, G. A. Weyhenmeyer & L. J. Tranvik, 2013. Inner filter correction of dissolved organic matter fluorescence. *Limnology and Oceanography Methods* 11: 616–630
- Lakowicz, J. R., 2006. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, New York
- Lapworth, D. J., D. C. Gooddy, D. Allen & G. H. Old, 2009. Understanding groundwater, surface water, and hyporheic zone biogeochemical processes in a Chalk catchment using fluorescence properties of dissolved and colloidal organic matter. *Journal of Geophysical Research* 114: G00F02.
- Lawaetz, A. & C. Stedmon, 2009. Fluorescence intensity calibration using the Raman scatter peak of water. *Applied Spectroscopy* 63: 936–940.
- Leenheer, J.A. & J. P. Croué, 2003. Characterizing dissolved aquatic organic matter. *Environmental Science and Technology* 19A.
- Leenheer, J.A., 2009. Systematic approaches to comprehensive analyses of natural organic matter. *Annals of Environmental Science* 3: 1–130.
- Lewandowski, J. G. Lischeid & G. Nützmann, 2009. Drivers of water level fluctuations and hydrological exchange between groundwater and surface water at the lowland River Spree (Germany): field study and statistical analyses. *Hydrological Processes* 23: 2117–2128.
- Liu, C.P. & B. H. Sheu, 2003. Dissolved organic carbon in precipitation, throughfall, stemflow, soil solution and stream water at the Guandaushi subtropical forest in Taiwan. *Forest Ecology and Management* 172: 315–325.
- Lonborg, C., X. A. Álvarez-Salgado, K. Davidson, S. Martínez-García & E. Teira, 2010. Assessing the microbial bioavailability and degradation rate constants of dissolved organic matter by fluorescence spectroscopy in the coastal upwelling system of the Ría de Vigo. *Marine Chemistry*. 119: 121–129.
- Marlenko, N., 2003. Uso de la tierra. En: S. M. Navone (coord.), *Sensores remotos aplicados al estudio de los recursos naturales*. Editorial Facultad de Agronomía, UBA: 89-100.
- Matteuchi, S. D., 2012. Ecorregión Pampa. En Morelo, J., S. Matteuchi & A. Rodríguez (eds.). *Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos*. Orientación Gráfica Editora (1° ed.). Buenos Aires: 391–445.

- McDonald, S., A. G. Bishop, P. D. Prenzler & K. Robards. Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Analytica Chimica Acta* 527: 105-124.
- McKnight, D. M., E. W. Boyer, P. K. Westerhoff, P. T. Doran, T. Kulbe & D. T. Andersen, 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of recursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography* 46: 38-48.
- Meng, F., G. Huang, X. Yang, Z. Li, J. Li, J. Cao, Z. Wang, Li. Sun., 2013. Identifying the sources and fate of anthropogenically impacted dissolved organic matter (DOM) in urbanized rivers. *Water Research* 47: 5027–5039.
- Messetta M. L., C. Hegoburu, J. P. Casas-Ruiz, A. Butturinic & C. Feijoó. 2017, Characterization and qualitative changes in DOM chemical characteristics related to hydrologic conditions in a Pampean stream. *Hydrobiologia* DOI 10.1007/s10750-017-3422-x
- Miller, W. L. & M. A. Moran, 1997. Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment. *Limnology and oceanography* 42: 1317–1324.
- Miller W. L. & R. G. Zepp, 1995. Photochemical production of dissolved inorganic carbon from terrestrial organic matter: Significance to the oceanic organic carbon cycle. *Geophysical Research Letters* 22:417–420.
- Milly, P. C. D., K. A. Dunne & A. V. Vecchia, 2005. Global pattern of trends in streamflow and water availability in a changing climate. *Nature* 438: 347–350.
- Moatar, F., B. W. Abbott, C. Minaudo, F. Curie, & G. Pinay, 2017. Elemental properties, hydrology, and biology interact to shape concentration-discharge curves for carbon, nutrients, sediment, and major ions. *Water Resources Research* 53: 1270-1287.
- Montuelle, B. & B. Volat, 1993. Use of microbial exoenzymatic activities in aquatic ecosystems studies. *Revue des Sciences de l'Eau* 6: 251–268.
- Moran, M.A., W. M. Sheldon, & R. G. Zepp, 2000. Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnology and oceanography* 45: 1254–1264.
- Morello, J. & Matteuchi, 1997. El modelo agrícola del Núcleo Maicero como sistema complejo. En: Morello J. & O. T. Solbrig (comps.). *La pampa ondulada: granero del mundo hasta cuándo?* Orientación gráfica editora, SRL, Buenos Aires: 201–231.
- Mopper, K. & C. a. Schultz, 1993. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Marine Chemistry*, 41:229–238.
- Moran M. A. & R. G. Zepp, 1997. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnology and oceanography*, 42: 1307–1316.

- Murphy, K. R., R. Bro & C. A. Stedmon, 2014. Chemometric Analysis of Organic Matter Fluorescence, pp. 339–375. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds, and R. G. M. Spencer [eds.], Aquatic organic matter fluorescence. Cambridge Univ. Press.
- Murphy, K.R., C. A. Stedmon, D. Graeber & R. Bro, 2013. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC. Analytical Methods 5: 6557-6566.
- Murphy, K.R., A. Hambly, S. Singh, R. K. Henderson, A. Baker, R. Stuetz & S. J. Khan, 2011. Organic matter fluorescence in municipal water recycling schemes: Towards a unified PARAFAC model. Environmental Science and Technology 45: 2909–2916.
- Murphy, K. R., K. D. Butler, R. G. M. Spencer, C. A. Stedmon, J. R. Boehme, G. R. Aiken, 2010. Measurement of dissolved organic matter fluorescence in aquatic environments: an interlaboratory comparison. Environmental Science and Technology 44: 9405–9412.
- Murphy, K.R., G. M. Ruiz, W. T. M. Dunsmuir & T. D. Waite, 2006. Optimized parameters for fluorescence-based verification of ballast water exchange by ships. Environmental Science and Technology 40: 2357–2362.
- Mulholland, P. J. & J. R. Webster, 2010. Nutrient dynamics in streams and the role of J-ABS. Journal of the North American Benthological Society 29: 200–117.
- Muller, C. L., A. Baker, R. Hutchinson, I. J. Fairchild & C. Kidd, 2008. Analysis of rainwater dissolved organic carbon compounds using fluorescence spectrophotometry. Atmospheric Environment 42: 8036–8045.
- Neal, C., A. J. Robson, M. Neal & B. Raynold.s, 2005. Dissolved organic carbon for upland acidic and acid sensitive catchments in mid-Wales. Journal of Hydrology 304: 203–220.
- Ogawa, H. Y. Amagai, I. Koike, K. Kaiser & R. Benner. 2001. Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. Science (New York, N.Y.), 292: 917– 20.
- Osburn, C. L., R. Del Vecchio & T. J. Boyd. 2014. Physicochemical Effects on Dissolved Organic Matter Fluorescence in Natural Waters, p. 233–277. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds, and R. G. M. Spencer [eds.], Aquatic organic matter fluorescence. Cambridge Univ. Press.
- Osmond, D. L., D. M. Butler, N. R. Rannells, M. H. Poore, A. Wossink & J. T. Green, 2007. Grazing Practices: A Review of the Literature. North Carolina Agricultural Research Service, Technical Bulletin 325-W. North Carolina State University. Raleigh, NC.
- Opsahl, S. & R. Benner, 1998. Photochemical reactivity of dissolved lignin in river and ocean waters. Limnology and Oceanography, 46: 1297–1304. Qualls, R. G., & B. L. Haines, 1991. Geochemistry of dissolved organic nutrients in water percolating through a forest ecosystem, Soil Science Society of America Journal 55: 1112– 1123.
- Parlanti, E., K. Worz, L. Geoffroy, & M. Lamotte, 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. Organic Geochemistry 31: 1765–1781.

- Persson, T. & M. Wedborg, 2001. Multivariate evaluation of the fluorescence of aquatic organic matter. *Analytica Chimica Acta* 434: 179–192.
- Prairie, Y. T., 2008. Carbocentric limnology: Looking back, looking forward. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 65: 543–548
- Qualls, R. G. & B. L. Haines, 1991. Geochemistry of dissolved organic nutrients in water percolating through a forest ecosystem. *Soil Science Society of America Journal* 55: 1112–1123.
- Raymond, P. A., J. E. Saiers & W. V. Sobczak, 2016. Hydrological and biogeochemical controls on watershed dissolved organic matter transport: pulse- shunt concept. *Ecology* 97: 5–16.
- Raymond, P. A., J. Hartmann, R. Lauerwald, S. Sobek, C. McDonald, M. Hoover, D. Butman, R. Striegl, E. Mayorga, C. Humborg, P. Kortelainen, H. Dürr, M. Meybeck, P. Ciais & P. Guth, 2013. Global carbon dioxide emissions from inland waters. *Nature* 503: 355–359.
- Raymond, A. P., & J. E. Saiers. 2010. Event controlled DOC export from forested watersheds. *Biogeochemistry* 100:197–209.
- Repeta, D. J., T. M. Quan, L. I. Aluwihare & A. M. Accardi, 2002. Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66: 955-962.
- Rochelle-Newall, E. J. & T. R. Fisher, 2002. Chromophoric dissolved organic matter and dissolved organic carbon in Chesapeake Bay. *Marine Chemistry* 77: 23-41.
- Rochelle-Newall, E., M. Pizay, J. Middelburg, H. Boschker & J. Gattuso, 2004. Degradation of riverine dissolved organic matter by seawater bacteria. *Aquatic Microbial Ecology* 37:9–22.
- Rodriguez Castro M. C., C. Vilches, A. Torremorell, C. Vázquez & A. Giorgi, 2015. Total reflection X ray fluorescence in environmental and geochemical studies: unveiling solute provenance in streams during a rain episode. *X-Ray Spectrometry* 45: 225–232.
- Romaní, A. M., E. Vázquez & A. Butturini, 2006. Microbial availability and size fractionation of dissolved organic carbon after drought in an intermittent stream: biogeochemical link across the Stream-Riparian interface. *Microbial Ecology*.
- Romera-Castillo, C., H. Sarmiento, X. A. Álvarez-Salgado, J. M. Gasol & C. Marrase, 2011. Net production and consumption of fluorescent colored dissolved organic matter by natural bacterial assemblages growing on marine phytoplankton exudates. *Applied and Environment Microbiology*. 77: 7490–7498.
- Sala, J. M., N. Gonzales & E. Kruse, 1983. Generalización hidrológica de la provincia de Buenos Aires. *Coloquio Internacional sobre Hidrología de Grandes Llanuras*: 976–1009.
- Sachse, A., R. Henrion J. Gelbrecht & C. E. W. Steinberg, 2005. Classification of dissolved organic carbon (DOC) in river systems: influence of catchment characteristics and autochthonous processes. *Organic Geochemistry* 36:923–935.

Santos, P. S. M., R. M. B. O. Duarte & A. C. Duarte, 2009. Absorption and fluorescence properties of rainwater during the cold season at a town in Western Portugal. *Journal of Atmospheric Chemistry* 62:45–57.

Saraceno, J. F., B. A. Pellerin, B. D. Downing, E. Boss, P. A. M. Bachand & B. A. Bergamaschi, 2009. High-frequency in situ optical measurements during a storm event: Assessing relationships between dissolved organic matter, sediment concentrations, and hydrologic processes. *Journal of Geophysical Research* 114: G00F09.

Senesi, N., T. Miano, M. Provenzano & G. Brunetti, 1991. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. *Soil Science* 152: 259–271.

Serrano, L., 1992. Leaching from vegetation of soluble poliphenolic compounds, and their abundance in temporary ponds in the Doñana National Park (SW Spain). *Hydrobiologia* 229: 43-50.

Shimotori K., K. Watanabe & T. Hama, 2012. Fluorescence characteristics of humic-like fluorescent dissolved organic matter produced by various taxa of marine bacteria. *Aquatic Microbial Ecology* 65: 249–260.

Sinsabaugh, R. L. & C. M. Foreman, 2003. Integrating dissolved organic matter metabolism and microbial diversity: an overview of conceptual models. In: Findlay S, Sinsabaugh RL (eds) *Aquatic ecosystems interactivity dissolved organic matter*. Elsevier, Academic Press, pp 426–454.

Siudek P., M. Frankowski & J. Siepak, 2015. Seasonal variations of dissolved organic carbon in precipitation over urban and forest sites in central Poland. *Environmental science and Pollution Research* 22:11087–11096.

Sophocleous, M., 2002. Interactions between groundwater and surface water: the state of the science. *Hydrogeology Journal* 10:52–67.

Spencer, R.G.M., G. R. Aiken, K. D. Butler, M. M. Dornblaser, R. G. Striegl & P. J. Hernes, 2009. Utilizing chromophoric dissolved organic matter measurements to derive export and reactivity of dissolved organic carbon to the Arctic Ocean: a case study of the Yukon River, Alaska. *Geophysical Research Letters* 36: L06401.

Stanley, E. H., S. M. Powers, N. R. Lottig, I. Buffam & J. T. Crawford, 2012. Contemporary changes in dissolved organic carbon (DOC) in human-dominated rivers: is there a role for DOC management? *Freshwater Biology* 57: 26–42.

Stedmon, C. A. & R. M. Cory, 2014. Biological Origins and Fate of Fluorescent Dissolved Organic Matter in Aquatic Environments, p. 278–299. In P. Coble, J. Lead, A. Baker, D. Reynolds, and R. G. M. Spencer [eds.], *Aquatic organic matter fluorescence*. Cambridge Univ. Press.

Stedmon, C. A., X. A. Álvarez-Salgado, 2011. Shedding light on a black box: UV–visible spectroscopic characterization of marine dissolved organic matter. *Microbial Carbon Pump in the Ocean*. N. Jiao; F. Azam and S. Sanders [eds], American Association for the Advancement of Science, p. 62-63.

- Stedmon, C. A. & R. Bro, 2008. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: A tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods* 6: 572–579.
- Stedmon, C. A., S. Markager, L. Tranvik, L. Kronberg, T. Slätis & W. Martinsen, 2007. Photochemical production of ammonium and transformation of dissolved organic matter in the Baltic Sea. *Marine Chemistry* 104: 227–240.
- Stedmon, C. A., & S. S. Markager, 2005a. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using PARAFAC analysis. *Limnology and Oceanography* 50: 686–697.
- Stedmon, C. A., & S. S. Markager, 2005b. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis. *Limnology and Oceanography* 50: 1415–1426.
- Stedmon, C.A., S. Markager & R. Bro, 2003. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry* 82: 239–254.
- Stets, E.G. & R. G. Striegl, 2012. Carbon export by rivers draining the conterminous United States. *Inland Waters* 2: 177–184.
- Stepanauskas, R., L. Leonardson & L. J. Tranvik, 1999. Bioavailability of wetland-derived DON to freshwater and marine bacterioplankton. *Limnology and Oceanography* 44: 1477–1485.
- Stream Solute Workshop, 1990. Concepts and methods for assessing solute dynamics in stream ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society* 9: 95–119.
- Stubbins A., J.F. Lapierre, M. Berggren, Y. T. Prairie, T. Dittmar & P. A. del Giorgio, 2014. What's in an EEM? Molecular Signatures Associated with Dissolved Organic Fluorescence in Boreal Canada. *Environmental Science and Technology* 48: 10598–10606.
- Tanentzap, A. J., E. J. Szkokan-Emilson, B. W. Kielstra, M. T. Arts, N. D. Yan & J. M. Gunn, 2014. Forests fuel fish growth in freshwater deltas. *Nature Communications* 5: 4077.
- Telmer, K. & J. Veizer, 1999. Carbon fluxes, pCO₂ and substrate weathering in a large northern river basin, Canada: carbon isotope perspectives. *Chemical Geology* 159: 61–86.
- Tranvik, L.J., 1998. Degradation of Dissolved Organic Matter in Humic Waters by Bacteria. In: Hessen D.O., Tranvik L.J. (eds) *Aquatic Humic Substances. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*, vol 133. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Teymuri, B., 2007. Fluorescence spectroscopy and parallel factor analysis of waters from municipal waste sources. Doctoral dissertation. Universidad de Missouri, Columbia, 94 pp.
- Todd, D. K. & S. W. Mays, 2005. Groundwater Levels and Environmental Influences. In: *Groundwater hidrology* (3rd Edition).
- Vannote, R. L., G. W. Minshall, K. W. Cummins, J. R. Sedell & C. E. Cushing, 1980. The river continuum concept. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 37: 130–137.

- Vazquez, E., S. Amalfitano, S. Fazi. & A. Butturini, 2011. Dissolved organic matter composition in a fragmented Mediterranean fluvial system under severe drought conditions. *Biogeochemistry* 102: 59–72.
- Vazquez, E., A. M. Romani, F. Sabater & A. Butturini, 2007. Effects of the dry-wet hydrological shift on dissolved organic carbon dynamics and fate across stream-riparian interface in a Mediterranean catchment. *Ecosystems* 10:239–251.
- Viglizzo, E. F. F. C. Frank & L. V. Carreño, 2006. Situación ambiental de las ecoregiones Pampa y Campos y Malezales. En: Brown A, Martínez Ortíz U., Acerbi M & Corcuera J. (eds.). *La situación Ambiental Argentina 2005*. Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires: 261–278.
- Viglizzo, E. F., A. J. Pordomingo, M. G. Castro & F. A. Lertora, 2003. Environmental assessment of agriculture at a regional scale in the Pampas of Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* 87: 169–195.
- Vilches, C., & A. Giorgi, 2010. Metabolism in a macrophyte-rich stream exposed to flooding. *Hydrobiologia* 654: 57–65.
- Vilches, C., C. Rodríguez Castro, A. Torremorell, E. Zunino & A. Giorgi, 2014. Efecto de una lluvia sobre las características químicas de un arroyo pampeano. *Biología acuática* 29: 363.
- Vidon, P., L. E. Wagner & E. Soyeux, 2008. Changes in the character of DOC in streams during storms in two Midwestern watersheds with contrasting land uses. *Biogeochemistry* 88: 257–270.
- Volk, C. J., C. B. Volk & L. A. Kaplan, 1997. Chemical composition of biodegradable dissolved organic matter in streamwater. *Limnology and Oceanography* 42: 39–44.
- Weishaar, J. L., G. R. Aiken, B. A. Bergamaschi, M. S. Fram, R. Fujii & K. Mopper, 2003. Evaluation of specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon. *Environmental Science and Technology* 37: 4702–4708.
- Wetzel, R. G., P. G. Hatcher & T. S. Bianchi, 1995. Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. *Limnology and Oceanography* 40: 1369–1380.
- Wetzel, R. G., 2001. *Limnology, Third edition: Lake and River ecosystems*. Academic Press, London, UK.
- Williams, C. J., Y. Yamashita, H. F. Wilson, R. Jaffé, & M. A. Xenopoulos, 2010. Unraveling the role of land use and microbial activity in shaping dissolved organic matter characteristics in stream ecosystems. *Limnology and oceanography* 55: 1159–1171.
- Wilson, H. F. & Xenopoulos, 2009. Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter. *Nature geoscience* 2: 37–41. *Limnology and Oceanography* 55: 1159–1171.

- Wollheim, W. M., R. J. Stewart, G. R. Aiken, K. D. Butler, N. B. Morse, & J. Salisbury, 2015. Removal of terrestrial DOC in aquatic ecosystems of a temperate river network. *Geophysical Research Letters* 42: 1–9.
- Weyhenmeyer, G. A., M. Froberg, E. Karlton, M.a Khalili, D. Kothawala, J. Temnerud & L. J. Tranvik, 2012. Selective decay of terrestrial organic carbon during transport from land to sea. *Global Change Biology* 18: 349–355.
- Yamashita, Y. & R. Jaffé, 2008. Characterizing the Interactions between Trace Metals and Dissolved Organic Matter Using Excitation–Emission Matrix and Parallel Factor Analysis. *Environmental Science and Technology* 42: 7374–7379.
- Yano, Y., K. Lajtha, P. Sollins & B. A. Caldwell, 2004. Chemical and seasonal controls on the dynamics of dissolved organic matter in a coniferous old-growth stand in the Pacific Northwest, USA. *Biogeochemistry* 71:197–223.
- Ylla, I., I. Sanpera -Calbet, E. Vázquez, M. Román, I. Muñoz, A. Butturini & S. Sabater, 2010. Organic matter availability during pre- and post-drought periods in a Mediterranean stream. *Hydrobiologia* 657:217–232.
- Zhang, Y. L., E. L. Zhang, M. L. Liu, X. Wang & B. Q. Qin, 2007. Variation of chromophoric dissolved organic matter and possible attenuation depth of ultraviolet radiation in Yunnan Plateau lakes. *Limnology* 8: 311–319.
- Zsolnay, A., E. Baigar, M. Jimenez, B. Steinweg & F. Saccomandi, 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* 38:45–50.

Lista de Figuras y Tablas

Fig. 1: Esquema de un red trófica en la que se incluye el “microbial loop” reincorporando la MOD liberada por autótrofos a la red trófica a través de las bacterias y protozoos. La MOD alóctona, es directamente incorporada a través de la agregación de la MOD en partículas (POM). Los procesos potencialmente mejorados a través de la influencia de la MOD alóctonos se indican con '+'. Modificado de Fenchel (1986).....	14
Fig 2: Ubicación del arroyo Las Flores en la cuenca del río Lujan. Modificado de Vilches & Giorgi, 2010.....	23
Fig. 3: Ubicación del Arroyo las Flores y los puntos B ₁ , B ₂ y A (ubicado aguas abajo).....	27
Fig. 4: Colectores para la toma de muestras de la escorrentía subsuperficial y el agua subterránea (arriba) y pluviómetro y colector de escorrentía superficial (abajo).....	29
Fig. 5: Tomado de Elozegi et al., 2009. Representación de sección del cauce, en las que se midió la velocidad (círculos) y la profundidad	31
Fig. 6: Región del espectro de absorción para el cálculo del SUVA y la pendiente espectral.....	34
Fig. 7: Representación gráfica de una matriz de excitación - emisión (EEM), en el plano (izq) o tridimensional.....	35
Fig. 8: Región del espectro de emisión para el cálculo de los índices HIX, BIX y FI (izquierda) y ubicación de los principales fluoróforos encontrados en las EEMs (derecha).....	36
Fig. 9: Figura modificada a partir de Elozegui et al. 2009. Esquema de un río ganador y un río perdedor.....	40
Fig. 10: Fig. 10: a) Evolución temporal de la precipitación y b) Evolución temporal del caudal para el periodo de muestreo (julio 2013 - agosto 2015.).....	43
Fig. 11: Fig. 11: a) Evolución temporal del nivel del arroyo y el freático (medido en m) y b) Evolución temporal del gradiente hidráulico para el periodo de muestreo (julio 2013 - agosto 2015.....	44
Fig. 12: Gráficos de frecuencia acumulada e Histograma a) del log Q (unidades originales l s-1) y b) del gradiente hidráulico.....	45
Fig. 13: Concentración de COD para el A y sus “end members”. (donde A: arroyo, B1: Brazo 1, B2: Brazo 2, ESUB: escorrentía subsuperficial, ESUP: escorrentía superficial, F: freático y Ll: lluvia).....	51
Fig. 14: a) absorbancia específica a 254 (SUVA) y b) Slope ratio (SR) para el A y sus “end members”. (donde A: arroyo, B1: Brazo 1, B2: Brazo 2, ESUB: escorrentía subsuperficial, ESUP: escorrentía superficial, F: freático y Ll: lluvias).....	52

Fig. 15: a) Índice de humificación (HIX), b) Índice biológico (BIX) y c) Índice de fluorescencia (Fi) para el A y sus “end members” (donde A: arroyo, B1: Brazo 1, B2: Brazo 2, ESUB: escorrentía subsuperficial, ESUP: escorrentía superficial, F: freático y Ll: lluvias).....	54
Fig. 16: Relación entre la concentración de COD (mg l^{-1}) y el Q (l s^{-1}) para el a) A, b) B ₁ y c) B ₂	55
Fig. 17: Relaciones entre SUVA e HIX con el Q (l s^{-1}) para el evento de mayo (a y c) y para el evento de julio (b y d).....	58
Fig. 18: Relaciones entre los picos A, C y M con el Q (l s^{-1}) para el evento de mayo a la izquierda y para el evento de julio a la derecha.....	59
Fig. 19: Imagen tomada de Buchan et al., 2014. Transformación y producción de COD a lo largo de la red trófica acuática. El ciclo del carbono incluye una serie de procesos, varios de los cuales están mediados por microorganismos.....	68
Fig. 20: Tomado de Raymond et al. (2016). Los ingresos de MOD de origen terrestre, está dominada por los eventos de alto caudal. La mayor parte de ese COD, entra en un tubo pasivo y es transportado conservativamente a través de la red de drenaje. El COD que ingresa en condiciones de bajo caudal, entra en un tubo activo, en el cual es procesado y no exportado.....	69
Fig. 21: Determinación grafica de los principales “end members” que contribuyen al caudal, a) condición de caudal basal b) condición de crecida.....	71
Fig. 22: Modelo global del balance de masa, donde Q _{B1} (caudal del brazo 1), Q _{B2} (caudal del brazo 2), Q _{ESUP} (caudal de la escorrentía superficial), Q _F (caudal del agua subterránea, freática) y Q _A (caudal del arroyo).....	71
Fig. 23: Contribución de los “end member” al caudal del arroyo, a) condiciones basales y b) condiciones de alto caudal (lluvias).....	75
Fig. 24: Contribución de los “end member” en función del caudal (Q (l s^{-1})). El modelo que mejor describió la relación entre la contribución del B1 y el caudal fue logarítmico (línea verde), y el modelo que mejor describió la relación entre la contribución del freático y el caudal fue el modelo potencial (línea roja).....	76
Fig. 25: Eficiencias de retención/liberación (%) en función del caudal (l s^{-1}), para la concentración de COD, el índice de humificación (HIX) y para los principales picos húmicos (Peak A, C y M).....	79
Fig. 26: Esquema gráfico del solapamiento entre la MOD, CDOM y FDOM (<i>Modificado de Stedmon y Cory 2014</i>). La flecha indica el incremento de la aromaticidad, de la conjugación y de la proporción carbono: hidrógeno (C:H) (<i>Álvarez-Salgado, 2011</i>).....	85
Fig. 27: Arreglo de EEMs en una estructura tridimensional y descompuesta en cinco componentes de PARAFAC (Tomado de Murphy et al. 2013).....	88
Fig. 28: Esquema de los pasos involucrados en el análisis de PARAFAC de matrices de emisión de excitación de fluorescencia (<i>Modificado de Murphy et al. 2014</i>).....	91

Fig. 29: Representación de las EEMS y los espectros de las cargas (Loadings) para los componentes (C1, C2 y C3) de PARAFAC.....	93
Fig. 30: Valores de intensidad de fluorescencia ($F_{\text{máx}}$) para cada uno de los componente a) C1, b) C2 y c) C3 resultantes de la aplicación del PARAFAC para el arroyo y los “end member” (donde A: arroyo, B1: Brazo 1, B2: Brazo 2, ESUP: escorrentía superficial, ESUB: escorrentía subsuperficial y Ll: lluvia).....	94
Fig. 31: Relación entre los componentes de PARAFAC y el caudal ($l\ s^{-1}$) para el a) A, b) B ₁ y c) B ₂	96
Fig. 32: Relación entre los componentes PARAFAC (C1, C2 y C3) con el caudal, para los eventos de precipitación de a) mayo de 2014, b) enero de 2015 y c) julio de 2015.....	96
Fig. 33: Cambio en la fluorescencia a través del tiempo para los eventos de precipitación estudiados.....	97
Fig. 34: Tomado de Feijoó & Lombardo (2007). Mapa de la provincia de Buenos Aires, indicando las regiones hidrogeográficas propuestas por Frenguelli (1956) y los arroyos muestreados (puntos negros).....	104
Fig. 35: Porcentaje de uso de suelo en cada una de las regiones.....	106
Fig. 36: Concentración de COD ($mg\ L^{-1}$) para las campañas de noviembre de 2015 y febrero de 2016, para las regiones hidrogeográficas.....	107
Fig. 37: Ubicación de los arroyos pertenecientes a la Región del Salado (A), Vallimanca (B), Afluentes del Río Paraná y Río de la Plata (C) y Afluentes del océano Atlántico (D) en el plano determinado por: (a) los componentes 1 y 2 y (b) componentes 1 y 3 del PCA	110
Fig. 38: Modelo descriptivo propuesto para el transporte y transformación de la MOD a escala de tramo, en condiciones basales.....	115
Fig. 39: Modelo descriptivo propuesto para el transporte y transformación de la MOD a escala de tramo, en condiciones de alto caudal.....	115

ANEXO

Fig. A1: Ubicación de los principales iones conservativos empleados en la determinación de los “end members” que contribuyen al caudal	124
Fig. A2: Relación entre la eficiencia de liberación de COD (η_{COD}) y la temperatura ($^{\circ}C$)	124

Tabla 1: Denominación común para los picos de fluorescencia observados en una EEMs de MOD acuática.....	36
Tabla 2: Caudal ($l \cdot s^{-1}$) y altura del arroyo (m) para los tres eventos de precipitación. Los datos de caudal mostrados en esta tabla se obtuvieron a partir de la aplicación de la eq. 1 a los datos de nivel medidos con el levelogger.....	42
Tabla 3: Parámetros fisicoquímicos para el arroyo y los distintos “end members”, expresados como media \pm EE.....	51
Tabla 4: Principales picos de fluorescencia, expresados como media \pm EE, para los para el A y sus “end members” Los picos de fluorescencia se reportan como contribución porcentual de cada pico, calculado como el cociente entre la fluorescencia total y la fluorescencia de cada pico.....	53
Tabla 5: Relación entre el caudal (expresado como log) y distintos índices ópticos en el A y los dos tributarios (B_1 y B_2). Se indican el coeficiente de correlación (r), el coeficiente de determinación (R^2), la pendiente (b), el nivel de significancia y el número de casos. NR, indica no relación entre las variables.....	56
Tabla 6: Datos de caudal ($l \cdot s^{-1}$) para el arroyo y en sus tributarios (B_1 y B_2) para las 10 ocasiones de muestreo utilizadas para el cálculo del balance de masas.....	74
Tabla 7: Eficiencias de retención/liberación $\eta'_{(DOC)}$ para el tramo de estudio. Los valores positivos indican una ganancia neta del soluto a lo largo del tramo, mientras que los valores negativos indican una pérdida neta.....	77
Tabla 8: Eficiencias de retención/liberación, corregidas por la EC, para el tramo de estudio para los índices de absorbancia y fluorescencia. Los valores positivos indican una ganancia neta del soluto a lo largo del tramo, mientras que los valores negativos indican una pérdida neta.....	78
Tabla 9: Ubicación de los principales componentes hallados en la MOD (ex: excitación; em: emisión).....	92
Tabla 10: Contribución relativa de cada uno de los componentes a la fluorescencia total.....	95
Tabla 11: Medidas resumen, expresadas como media \pm E.E., para los índices ópticos (BIX, FI e HIX) indicadas por región.....	108
Tabla 12: Autovalores, varianza explicada y contribución de las variables a los cuatro componentes significativos del Análisis de Componentes Principales.....	109
Tabla 13: Matriz de correlación de las variables utilizadas para el Análisis de Componentes Principales.....	109

ANEXO

Tabla A1: Tabla A1: Datos empleados en el PCA.....	122
Tabla A2: Autovalores, varianza explicada y contribución de las variables a los dos componentes significativos del Análisis de Componentes Principales.....	123
Tabla A3: Matriz de correlación de las variables utilizadas para el Análisis de Componentes Principales	123