

Geoquímica e isótopos del nitrato en el acuífero libre de un agroecosistema, cuenca del arroyo Knutzen, Córdoba, Argentina

María Jesica Giuliano Albo¹, Mónica Blarasin² y Héctor Panarello³

¹ Conicet - Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales (FCEFQyN), Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC).

² Dpto. de Geología, FCEFQyN (UNRC).

³ Instituto de Geocronología y Geología Isotópica-CONICET-UBA.

Mail de contacto: jgiuliano@exa.unrc.edu.ar

RESUMEN

Los fertilizantes y residuos ganaderos contaminan los acuíferos con nitratos (NO_3^-). En estos escenarios se pueden analizar los isótopos ^{15}N y ^{18}O del mismo como herramienta para discriminar dichas fuentes. El objetivo es identificar el origen de la contaminación a través de características geoquímicas del agua y del uso de los isótopos del NO_3^- en esta cuenca de llanura del Sur de Córdoba. Los valores de NO_3^- hallados (3,0 a 192,5 mg/L), superan en su mayoría el valor característico de fondo natural de la zona (7,5 mg/L), y sumado al aporte de otros iones detectados, se evidencia la contaminación del acuífero. Los valores isotópicos de muestras seleccionadas dieron $\delta^{15}\text{N}$ de +6,39‰ a +12,33‰ y $\delta^{18}\text{O}$ de +2,04‰ a +7,96‰. Los NO_3^- habrían sufrido enriquecimiento isotópico principalmente por desnitrificación (verificada por $\epsilon\text{N}/\epsilon\text{O}$ de 1,5), que los desplaza de los campos asignados para cada fuente y que dificulta su discriminación.

Palabras clave: Isótopos, nitratos, desnitrificación, agua subterránea, agroecosistema.

ABSTRACT

Fertilizers and livestock wastes contaminate groundwater with nitrates (NO_3^-). It is possible to use NO_3^- isotopes (^{15}N and ^{18}O) as a tool to discriminate different NO_3^- sources. The objective of this work is to identify contamination sources using water geochemical characteristics and nitrate stable isotopes in a drainage basin in the South of Córdoba province, Argentina. The observed NO_3^- concentration in 23 samples ranged from 3.0 to 192.5 mg/L, most exceeding the reference values of local natural background (7.5 mg/L) indicating pollution of the aquifer in addition to the contribution of other ions. The isotopic values of selected samples ranged from +6.39 ‰ to +12.33 ‰ for $\delta^{15}\text{N}$ and from +2.04 ‰ to +7.96 ‰ for $\delta^{18}\text{O}$. NO_3^- isotope enrichment mainly caused by denitrification processes (verified with $\epsilon\text{N}/\epsilon\text{O} = 1.5$) shifted the isotope values out from the designated fields for each source, making difficult their discrimination.

Keywords: Isotopes, nitrates, denitrification, groundwater, agroecosystem.

Introducción

El nitrato (NO_3^-) es un importante indicador ambiental de impacto humano a ecosistemas acuáticos subterráneos en todo el mundo (Sutton et al., 2011). Para acompañar los estudios de las especies del nitrógeno en los escenarios de contaminación por NO_3^- derivados de distintas fuentes, es de gran importancia el análisis de los isótopos ^{15}N y ^{18}O del mismo (Kendall, 1998; Choi, 2002). El área de estudio (120 km²), ubicada en la Llanura Chaco-Pampeana Argentina, abarca la cuenca del arroyo Knutzen (Fig. 1). Es una zona rural en la que el uso de la tierra es agrícola-ganadero, con dominio de cultivo de soja e intenso uso de agroquímicos. Debido a la potencialidad de impacto de las actividades del

agroecosistema en la zona estudiada, el objetivo del presente trabajo es identificar el origen de la contaminación del acuífero a través de las características geoquímicas del agua y del uso de isótopos estables ^{15}N y ^{18}O del NO_3^- en esta cuenca de llanura del Sur de Córdoba.

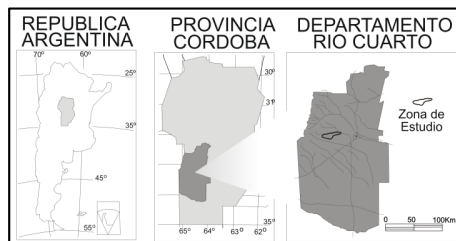


Figura 1. Ubicación del área de estudio.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio a escala 1:50.000 que incluyó una caracterización geológica-geomorfológica e hidrogeológica. Se efectuó un muestreo de agua en 23 perforaciones midiéndose in situ pH, temperatura, conductividad eléctrica (CE) y oxígeno disuelto (OD). En laboratorio se analizaron CO_3^{2-} , HCO_3^- , SO_4^{2-} , Cl^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , y NO_3^- . Los análisis se realizaron según técnicas estandarizadas (APHA, 1998) en el Dpto. Geología UNRC. Para realizar el estudio isotópico de los NO_3^- , se seleccionaron 5 sitios de interés de acuerdo al uso del territorio, para evaluar los posibles orígenes de este ion en el agua subterránea. Dichas muestras fueron analizadas en UWEILAB (Waterloo, Canadá).

Características climáticas, geológicas e hidrogeológicas

El clima es mesotermal subhúmedo, con registros de precipitaciones del orden de 800 mm, acumulándose el 80% en primavera-verano. El área estudiada comprende el ambiente geológico de Llanura Pampeana. El arroyo Knutzen nace por afloramiento de agua subterránea en una depresión en el piedemonte. En general, el área posee un importante control estructural que ha dado lugar a un relieve de bloques dislocados diferencialmente ascendidos y basculados, moderadamente ondulado, modelado por procesos fluviales y eólicos (Giuliano Albo et al., 2009). Las estructuras

también controlan la traza actual del arroyo Knutzen.

El acuífero libre sedimentario, con espesor variable desde 60 a 100 m, apoya sobre las rocas de basamento, detectadas mediante perforaciones y estudios geofísicos (Giuliano Albo et al., 2009). Está constituido predominantemente por sedimentos de tipo loésicos (arenas muy finas-limosas) de edad cuaternaria. Se detectaron paleocauces a diferentes profundidades, constituidos por arenas y gravas. Aparecen también intercalaciones de niveles cementados (calcretos) en el acuífero.

La dirección general de circulación del agua subterránea es W-E (Giuliano Albo et al., 2012), con profundidades del nivel freático entre aflorante en las nacientes del arroyo Knutzen (razón por la cual se origina este curso de agua) y en sectores hidrohalomórficos hasta aproximadamente 46,3 m en cuenca alta, en la divisoria Sur de la cuenca (Fig. 2)

En relación a aspectos hidrogeoquímicos, el agua del acuífero libre presenta CE entre 508 y 2050 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Fig. 3). La distribución de la salinidad del agua en el acuífero se vincula fundamentalmente a las unidades geomorfológicas definidas para la zona (Giuliano Albo et al., 2009). Se puede observar el aumento de la CE de NW hacia SE y E de la cuenca. Los sectores con agua más dulce son los ubicados en la margen Norte del arroyo, asociados a paleocauces. Las zonas de

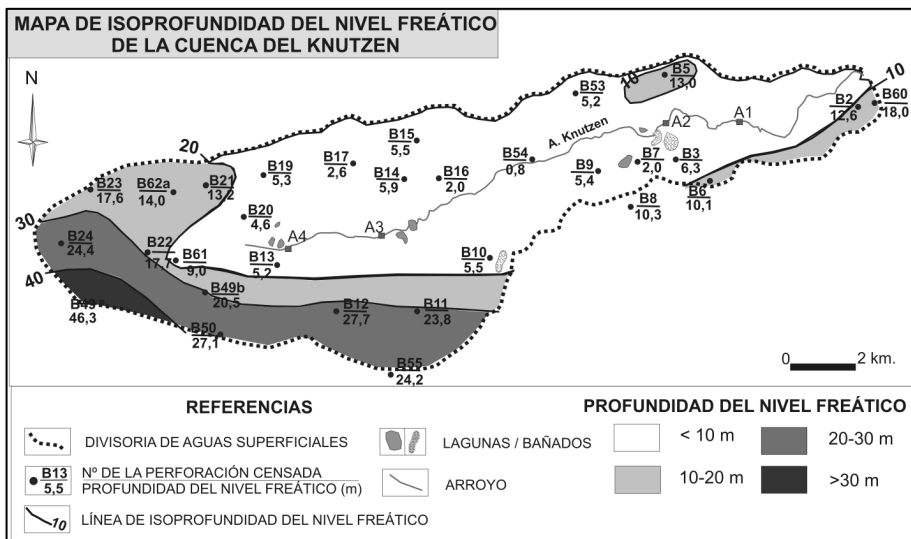


Figura 2. Mapa de isoprofundidad del nivel freático.

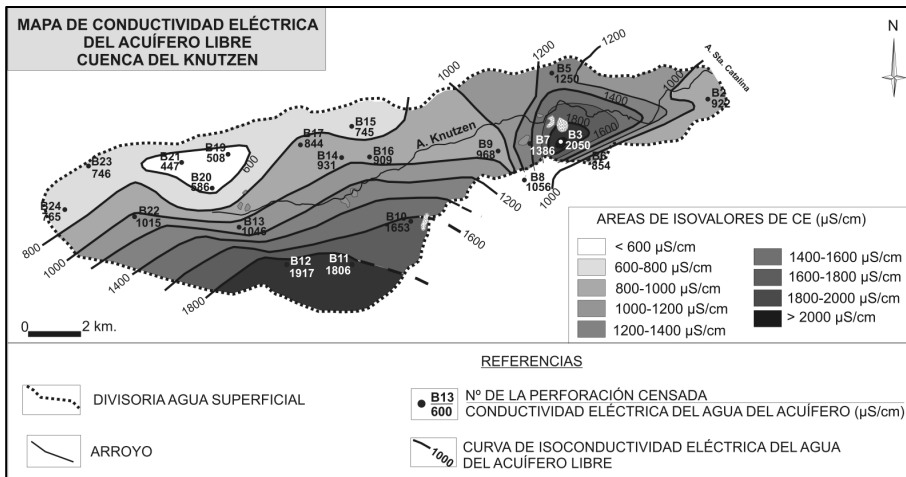


Figura 3. Mapa de distribución de conductividad eléctrica del acuífero libre.

mayor salinidad se asocian a bajos hidrohalmórficos (cuenca baja), en donde el nivel freático está próximo a superficie o aflorando y es más intensa la evapotranspiración. También aparecen valores altos de CE en la zona de la divisoria Sur de la cuenca donde los paquetes loésicos o mantos de arenas muy finas son más homogéneos.

En cuanto al tipo geoquímico el agua subterránea es en general bicarbonatada sódica, siendo bicarbonatada-sulfatada o sulfatada-bicarbonatada en sectores donde la salinidad es mayor, en bordes de cuenca donde los sedimentos son más homogéneos y/o en áreas deprimidas donde el nivel freático está cercano a superficie y predominan los procesos de evapotranspiración.

Influencia del uso del territorio en el contenido de nitratos

La agricultura supera ampliamente a la ganadería. Se encuentra en casi la totalidad de la cuenca, donde los suelos están mejor desarrollados, bien drenados, con excepción de las áreas de bañados. Domina la práctica de siembra directa que implica uso intensivo de agroquímicos (plaguicidas y fertilizantes). Los cultivos dominantes son la soja, luego el maíz y en menor medida el trigo y forrajeras. Se observan corrales y cría de ganado en establecimientos rurales/puestos, con vacas, cerdos y/o gallinas. Estas actividades pueden influir en los contenidos de nitratos, aunque su concentración en acuíferos se ve afectada por las características litológicas e hidrogeológicas

del acuífero, la dinámica hidrogeológica y los procesos de transporte que afectan a los compuestos de nitrógeno desde su aplicación en superficie hasta los niveles saturados del subsuelo (Muñoz et al., 2004; Brenes et al., 2011).

En las muestras de agua subterránea de la cuenca se midieron tenores de NO_3^- entre 3,0 y 192,5 mg/L (media: 29,0 mg/L) con un 10,5% de (Fig. 4) muestras que superan los 45,0 mg/L, límite de aptitud para consumo humano según el Código Alimentario Argentino (CAA), cercano a los 50,0 mg/L que propone como límite la Organización Mundial de la Salud- (OMS, 2011).

De acuerdo al relevamiento de campo y las relaciones entre el uso del territorio, las características hidrogeológicas y la ubicación de las perforaciones, la presencia del NO_3^- en el acuífero se asocia a distintas fuentes de contaminación. Los valores altos se vincularían principalmente a cría intensiva de ganado y corrales (contaminación puntual) y los más bajos se asociarían a la contaminación difusa derivada aplicación de fertilizantes (urea, fosfato mono y diamónico, sulfato de amonio), vinculado a la técnica de siembra directa y, en menor medida, a ganadería extensiva. Parte de los nitratos pueden estar vinculados a la descomposición de la materia orgánica del suelo.

Los valores de OD son menores en el acuífero que en el agua superficial, aspecto característico de los sistemas subterráneos (Appelo y Postma, 1996). Los valores hallados para el acuífero en la cuenca (comprendidos entre 2,1 y 7,7 mg/L) son los típicos para la

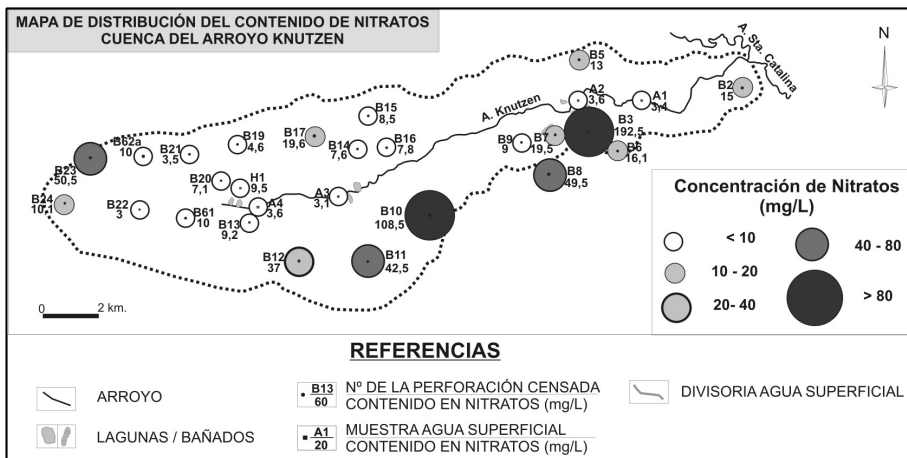


Figura 4. Mapa de distribución del contenido de nitratos en el área de estudio.

región y época de muestreo en acuíferos sedimentarios de la región, que localmente pueden estar afectados por llegada de materia orgánica (Blarasin et al., 2008). Si bien son variables, justifican la presencia de NO_3^- , iones que se movilizan en ambiente oxidante.

Isótopos estables ^{15}N y ^{18}O del nitrato en el agua

Las técnicas isotópicas se han utilizado con éxito para distinguir fuentes de nitrato, sobre todo al utilizarse ambos isótopos del mismo (Seiler, 2005; Li et al., 2010) ya que varias fuentes tienen rangos de valores de $\delta^{15}\text{N}$ amplios y que se superponen (Kreitler, 1979). Durante los procesos de nitrificación, volatilización del amonio y desnitrificación (Delwiche y Steyn, 1970), se produce un enriquecimiento isotópico por fraccionamiento. Dependiendo de los momentos e intensidades en que ocurran pueden generarse complicaciones en la interpretación de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{18}\text{O}$ del nitrato en el agua que se estudia. De todos estos procesos, la desnitrificación, dado que es un proceso de Rayleigh, provoca aumentos exponenciales de la $\delta^{15}\text{N}$ del nitrato residual (Kendall, 1998).

El contenido isotópico es comúnmente expresado como una desviación del estándar (desviación isotópica: δ), por ejemplo:

$$\delta^{15}\text{N}(\text{‰}) = 1000 \cdot \frac{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{muestra}} - \left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{estándar}}}{\left(\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}} \right)_{\text{estándar}}}$$

Un valor positivo indica enriquecimiento del nitrato en el isótopo más pesado (^{15}N) en la muestra con respecto al estándar. Los materiales de referencia internacionales (estándares) son el AIR (Atmospheric Inhalable Reservoir, correspondiente al N_2 atmosférico) para N y V-SMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water) para oxígeno.

Se seleccionaron 5 muestras, en función el uso del territorio, que dieron valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 6,39‰ a 12,33‰ y de $\delta^{18}\text{O}$ entre 2,04‰ y 7,96‰ cuya distribución se observa en el diagrama de la Fig. 5. Un aspecto a destacar es que sería necesario contar con mayor cantidad de muestras con análisis de isótopos del NO_3^- , aspecto que se complica por tratarse de técnicas que no se desarrollan en el país y su alto costo. Dado que es necesario vincular los datos isotópicos con otras variables, para analizar correlaciones cuando se cuenta con escaso número de muestras, es conveniente realizar las correlaciones a través del coeficiente de Spearman (r_s). Esto permite tener una visión descriptiva de cómo se asocian la $\delta^{15}\text{N}$ con sulfatos y cloruros, indicadores de contaminación (Edmunds, 1996; Blarasin et al., 2008).

Se obtuvo una correlación positiva entre la $\delta^{15}\text{N}$ y sulfatos (r_s : 0,7) y con cloruros (r_s : 0,9). En el primer caso, la presencia de sulfatos permite pensar en una asociación con fertilizantes aunque también pueden vincularse a la ganadería (Giuliano Albo 2013). La correlación con cloruros mostraría que la descarga de purines procedentes del ganado

sería la principal responsable del impacto al acuífero.

Los compuestos del N contenidos en el excremento ganadero sufrirán en el sitio en que son depositados procesos de volatilización, amonificación y nitrificación/desnitrificación, que producirán enriquecimiento isotópico del nitrato residual. Además, a mayor profundidad, en un ambiente moderadamente bajo en oxígeno (entre 2-4 mg/L), como ocurre con algunos sectores del acuífero estudiado al que llega materia orgánica procedente de ganadería, es posible la desnitrificación parcial del nitrato. Esto se ve evidenciado en parte por la correlación negativa moderada entre la $\delta^{18}\text{O}$ y el OD (r_s : -0,6), mostrando que mientras menos OD haya disponible hay mayor posibilidad de producirse la parcial desnitrificación (Giuliano Albo y Blarasin 2012a). Se puede dar el caso de que se formen "bolsas" anaeróbicas dentro de sedimentos oxigenados o de un cuerpo de agua (Koba et al., 1997). Este proceso resulta en un enriquecimiento de ^{15}N del nitrato remanente (Choi et al., 2001). Algunos organismos pueden desnitrificar en presencia de oxígeno (Robertson y Kuenen, 1991), por ejemplo *Thiobacillus* (Stouthamer et al., 1997). Los biofilms bacterianos pueden actuar como catalizadores y creadores de un ambiente químico reductor en ciertos sectores del acuífero y por lo tanto la desnitrificación parcial puede también observarse en agua subterránea con carácter oxidante (Seiler y Vomberg, 2005).

Evaluando el uso del territorio en las 5 perforaciones se observó que: B7, B62a y B61, poseen actividad ganadera (corrales, feed lot vacuno) en el entorno de las mismas y a sus alrededores se aplican fertilizantes (urea, fosfato

de amonio y sulfato de amonio). Las perforaciones B23 y B17 sólo tienen agricultura asociada con la respectiva aplicación de los fertilizantes ya mencionados.

En función de lo observado en la Fig. 5, todas las muestras caen en la gráfica, en el campo de *residuos ganaderos*, esperable para aquellas perforaciones donde se observó ganadería pero no para aquellas donde la misma no existe y sólo hay aplicación de fertilizantes (B17 y B23). Además, una de las muestras (B23), cuyo contenido de NO_3^- derivaría del N del suelo según su ubicación en el diagrama isotópico, se corresponde con un predio en donde no hay ganadería y se usan muy intensivamente 4 fertilizantes artificiales (urea, sulfatos de amonio, fosfato de amonio y UAN). La ubicación de éstas últimas en el sector nominado en la gráfica como "*residuos ganaderos-N del suelo*" y no en el de "*fertilizantes amoniacales mineralizados*" se debería al enriquecimiento del nitrato residual, derivado de los procesos que sufren estos fertilizantes. Así, la volatilización del amonio, amonificación, nitrificación y desnitrificación, todos procesos que ocurren en la zona edáfica (Fig. 6) en forma permanente dependiendo del estado de saturación del suelo, contenido bacteriano, etc., generan enriquecimiento de los nitratos, haciendo desplazar las muestras hacia campos más enriquecidos que la posición esperada en el diagrama. Otro aspecto importante en la posición obtenida para las muestras en el diagrama isotópico es que la urea es un compuesto orgánico. Kendall (1998) indica, también que la desnitrificación de los fertilizantes con nitratos que originalmente

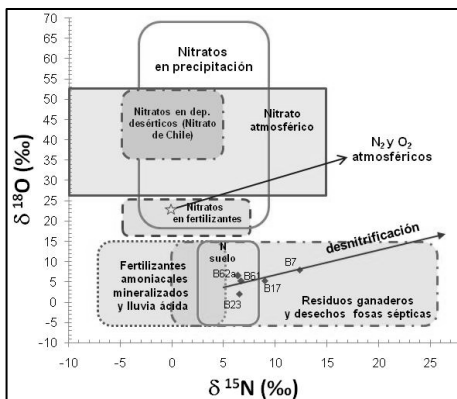


Figura 5. Composiciones isotópicas de los nitratos de las muestras del Knutzen. Fuente de la base gráfica: Kendall (1998).

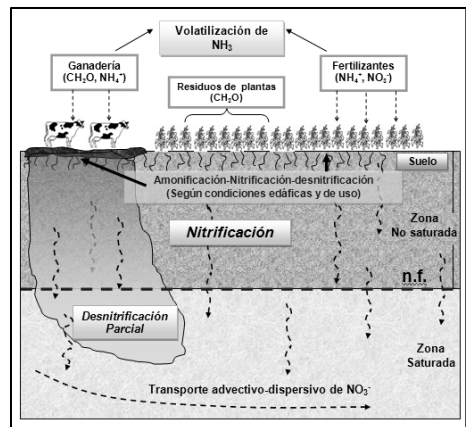


Figura 6. Resumen de los procesos que sufren los compuestos del N

tenían un valor distintivo de la $\delta^{15}\text{N}$ de 0‰, pueden producir nitrato residual con valores muchos mayores de $\delta^{15}\text{N}$, por ejemplo de +15‰ a +30‰, que habitualmente están en el rango de la composición esperada para nitratos que proceden de excretas.

Diversos autores indican que en los procesos de desnitrificación se ha observado que hay mayor enriquecimiento de nitrógeno que de oxígeno, lo cual se demuestra a través de la relación $\epsilon\text{N}/\epsilon\text{O}$, siendo ϵ el factor de enriquecimiento. Esta relación varía entre 1,3 (Fukada et al., 2003) y 2,1 (Böttcher et al., 1990). En las muestras del área estudiada, se observó una relación $\epsilon\text{N}/\epsilon\text{O}$ de 1,5, que se encuentra entre los rangos aportados para el proceso de desnitrificación.

El impacto de los fertilizantes puede también verificarse por los contenidos en fosfatos entre 0,3 y 5,7 mg/L. El aumento de fosfatos en acuíferos, derivados de actividad agrícola, está siendo evidenciado en los últimos años (Domagalski y Johnson, 2012).

Conclusiones

La comparación de los valores isotópicos con las fuentes potenciales de nitrato, sugieren principal fuente de aporte del mismo a los residuos ganaderos, con los valores más enriquecidos, corroborado con la correlación positiva de la $\delta^{15}\text{N}$ con los cloruros, provenientes fundamentalmente de purines. Sin embargo, otra fuente de aporte serían los fertilizantes aunque las muestras no se ubicaron en el campo propio de los fertilizantes amoniacales mineralizados del diagrama de $\delta^{15}\text{N}$ - $\delta^{18}\text{O}$. Esto se debería al fraccionamiento durante los procesos que sufren estos productos en el suelo, como la volatilización del amonio, amonificación y nitrificación/desnitrificación que puede producir nitrato residual enriquecido, con valores de $\delta^{15}\text{N}$ mucho más altos de los esperados. Se destaca que la urea es un producto orgánico lo que estaría influenciando también el desplazamiento observado en el gráfico.

La herramienta isotópica permitió verificar con mayor seguridad la influencia de la contaminación ganadera, que la de fertilizantes. Si bien se ha constatado el gran uso de los mismos, la evidencia de su impacto en el acuífero es menos evidenciable a través de esta herramienta. Queda reflejado así que, por sí sólo, el dato isotópico no define con certeza total las distintas fuentes de la que proceden los nitratos y que es de suma importancia tener los estudios hidrogeológicos de base, buena

información del uso del territorio en cada sitio y la medición de otros indicadores que ayuden a discriminar mejor las fuentes contaminantes.

Agradecimientos

Este trabajo fue subsidiado por FONCyT - MIN-CyT. PID 35/08 y Secyt UNRC, y a Conicet.

Referencias

- Appelo, C. y Postma, D. 1996. *Geochemistry, groundwater and pollution*. Balkema Publishers, Amsterdam. 536 pp.
- APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1998. 20th ed.
- Blarasin, M., Cabrera, A., Matteoda, E., Damilano, G. y Giuliano, J. 2008. Indicadores para evaluar cambios ambientales en acuíferos. Consideraciones sobre el fondo natural de la calidad de agua. En Cantú, Becker y Bedano (eds.) *Evaluación de la sustentabilidad ambiental en sistemas agropecuarios*. EFUNARC. Pp. 69-80.
- Böttcher, J., Strelbel, O., Voerkelius, S., y Schmidt, H. 1990. Using isotope fractionation of $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{NO}_3\text{-O}$ for evaluation of microbial denitrification in a sandy aquifer. *Journal of Hydrology*, 114: 413-424.
- Brenes, R., Cadena, A. y Ruiz-Guerrero, R. 2011. Monitoreo de la concentración de nitrato en el acuífero del Valle de Puebla. *Rev. Intern. de Contam. Amb.* 27, 313-321.
- CAA. Código Alimentario Argentino. On line: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo_12.php
- Choi, W., Lee, S. y S., Yoo. 2001. Increase in $\delta^{15}\text{N}$ of nitrate through kinetic isotope fractionation associated with denitrification in soil. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 44, 135-139.
- Choi, W. 2002. Natural N abundances and source identification of nitrogen in soil-plant-groundwater system as affected by chemical fertilizer and composted manure. Ph.D. thesis, Seoul National University, Seoul, p. 46-55.
- Delwiche, C. y Steyn, P. 1970. Nitrogen isotope fractionation in soils and microbial reactions. *Environmental Sc. Technology* 4, 929-935.
- Domagalski, J. y Johnson, H. 2012. Comparative Study of Phosphorus Transport in the Unsaturated Zone, Groundwater, Streams, and Tile Drains at Five Agricultural Watersheds, U. S. A.: *Journal of Hydrology*, v. 409, p.157-171.
- Edmunds, W. 1996. Indicators in the groundwater environment of rapid

- environmental change. En Berger y Iams (eds.) *Geoindicators: Assessing rapid environmental changes in earth systems*, Balkema Publishers. ISBN 90 5410 631. Pp. 135-150.
- Fukada, T., Hiscock, K., Dennis, P., y Grischek, T. 2003. A dual isotope approach to identify denitrification in ground-water at a river-bank infiltration site. *Water Resource* 37, 3070-3078.
- Giuliano Albo, M.J. y Blarasin, M. 2012a. Uso de Isotopos de ^{15}N y ^{18}O para evaluar fuentes de contaminación por nitratos en agua subterránea en un agroecosistema. *XI Congreso Latinoam. Hidrogeología*. Cartagena de India, Colombia. Resumen expandido n° 171, 4 pág. Actas Pág. 29.
- Giuliano Albo, M.J. y Blarasin, M. 2012b. Nitratos y fosfatos en el acuífero freático de un agroecosistema. Córdoba. Argentina. *II Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie*. Bahía Blanca. CD: pág. 103-107. Edic. de la UNS. ISBN: 978-987-1620-86-9.
- Giuliano, J., Blarasin, M., Cabrera, A., Matteoda, E. y Damilano, G. 2009. Geoquímica del arsénico y flúor en el acuífero freático de la cuenca del arroyo Knutzen, Córdoba. *I Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie*. Cba, Argentina. p. 45.
- Giuliano Albo, M. J., Blarasin, M., Cabrera, A. y Matteoda, E. 2012. Hidrogeoquímica del agua superficial y subterránea en el sistema Barranquita-Knutzen. Córdoba. Argentina. *Revista Latino-Americana de Hidrogeología (RLH)*. N° 8: 20-38. ISSN: 1676-0099.
- Giuliano Albo, M.J. 2013. Evaluación de la contaminación por nitratos en aguas subterráneas de agroecosistemas mediante el uso de isótopos estables ^{15}N - ^{14}N y otros solutos relacionados. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Río Cuarto. 385 p.
- Kendall, C. 1998. Tracing nitrogen sources and cycling in catchments. En Kendall y McDonnell (ed.) *Isotope Tracers in Catchment Hydrology*. Elsevier, Amsterdam. pp. 521-576.
- Koba, K., Tokuchi, N., Wada, E., Nakajima, T. y Iwatsubo, G. 1997. Intermittent denitrification: the application of a ^{15}N natural abundance method to a forested ecosystem, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61: 5043-5050.
- Kreitler, C. 1979. Nitrogen-isotope ratio studies of soils and groundwater nitrate from alluvial fan aquifers in Texas. *Journal of Hydrology* 42, 147-170.
- Li, S., Liu, C., Li, J., Liu, X., Chetelat, B., Wang, B. y F. Wang. 2010. Assessment of the sources of nitrate in Changjiang River, China using a nitrogen and oxygen isotope approach. En Cheong, Hamm, Lee., Lee y Woo (eds.) *Groundwater nitrate contamination and risk assessment in an agricultural area, South Korea*. Environmental Earth Science 66: 1127-1136.
- Muñoz, H., Armienta, A., Vera, A. y Geniceros, N. 2004. Nitrato en el agua subterránea del Valle de Huamantla, Tlaxcala, México. *Rev. Intern. de Contaminación Amb.* 20 (3), 91-97.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. 2011. Guidelines for drinking-water quality. Cuarta edición. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf
- Robertson, L. y J., Kuenen. 1991. The colorless sulfur bacteria. En Balow, Trüper, Dworkin, Harder y Schlifer (eds.) *The Prokaryotes*. Vol. 1, 2ª ed. Pp. 385-413. Springer-Verlag.
- Seiler, R.L. 2005. Combined use of ^{15}N and ^{18}O of nitrate and ^{11}B to evaluate nitrate contamination in groundwater. En Xue., Botte, De Baets., Accoe, Nestler, Taylor, Van Cleemput, Berglund y Boeckx (eds.) *Present limitations and future prospects of stable isotope methods for nitrate source identification in surface- and groundwater*. Water Research 43, 1159-1170.
- Seiler, K. y Vomberg, I. 2005. Denitrification in a karst aquifer with matrix porosity. En Razowska-Jaworek y Sadurski (eds.) *Nitrates in groundwater*. Balkema. Pp. 87-98.
- Stouthamer A., deBoer A., van der Oost J. y van Spanning R. 1997. Emerging principles of inorganic nitrogen metabolism in *Paracoccus denitrificans* and related bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 71: 33-41.
- Sutton, M., Howard, C., Erisman, J., Bleeker, G., Grennfelt, P., van Grinsven, H. y Grizzetti, B. 2011. *The European Nitrogen Assessment Sources, Effects and Policy Perspectives*. Cambridge Univ. Press. 666 pp.