



**Cantidad, distribución y actividad metabólica de partículas finas aguas abajo de un río receptor de un efluente de aguas residuales depuradas**

Thalia Veronica Lazo Campos

Centro de Estudios Avanzados de Blanes  
(CEAB-CSIC), Blanes CEAB

Susana Bernal y Jen Drummond

27 septiembre de 2018

Máster en Ecología Gestión y Restauración del  
Medio Natural



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

Thalia Veronica Lazo Campos

Centro de Estudios Avanzados de Blanes (CEAB-CSIC), Blanes CEAB

Susana Bernal y Jen Drummond

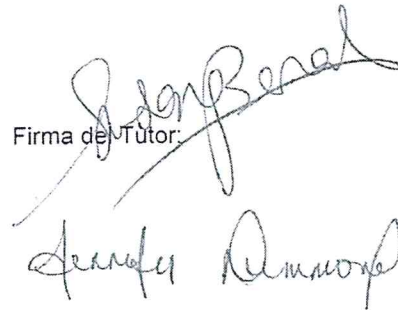
27 septiembre de 2018

Máster en Ecología Gestión y Restauración del Medio Natural

Firma del Autor:

Handwritten signature of Thalia Lazo Campos in blue ink.

Firma de Tutor:

Two handwritten signatures in blue ink. The top one is Susana Bernal and the bottom one is Jen Drummond.

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo agradecer a una larga lista de personas que han contribuido a la finalización de este trabajo. En primer lugar, me gustaría agradecer a mis asesoras, Dra. Susana Bernal y Dra. Jennifer Drummond, por la oportunidad de realizar este trabajo, pero sobre todo por la paciencia y orientación brindada. Otro especial agradecimiento al Dr. Francesc Sabater por cada clase recibida y por el apoyo a este trabajo. A Regina Roca, por toda la ayuda en el laboratorio. No me hubiera sido posible realizar este máster sin el apoyo de la “Beca Presidente de la República”, gracias al estado peruano por impulsar la educación. Por último mi más profundo agradecimiento a mis padres, hermanas y demás familiares que siempre estuvieron cerca y me apoyaron en esta nueva experiencia.

## **RESUMEN:**

La materia particulada fina es un componente fundamental de los ecosistemas fluviales y su estudio nos permite comprender muchos procesos ecológicos, así como la actividad metabólica del río. Los ríos urbanos de régimen intermitente, tienen poca capacidad de dilución durante la mayor parte del año, y por tanto, los efluentes procedentes de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) pueden modificar substancialmente la cantidad y calidad de la materia particulada fina. Aún se desconoce el alcance de estas entradas y cómo influyen sobre la actividad metabólica en el río receptor. El objetivo del presente trabajo fue explorar el efecto de la entrada del efluente de la EDAR Santa María de Palautordera sobre la cantidad de materia fina particulada y su calidad, así como explorar cómo estas entradas afectan la eficiencia de la actividad metabólica microbiana (MMAE) de los microorganismos heterótrofos aeróbicos. Los resultados mostraron un claro incremento en la cantidad de la materia particulada fina aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR, el cual se extendió a lo largo de todo el tramo estudiado (~ 1km) durante el periodo seco, cuando el efluente de la EDAR constituyó el 60-100% del caudal. En cuanto a la calidad de la materia particulada fina, durante el periodo seco, observamos que el porcentaje de materia orgánica (%OM) fue significativamente superior aguas abajo que aguas arriba de la entrada del efluente de la EDAR. En cambio, el incremento en el %OM y el aumento de MMAE fue más local (en la escala de cientos de metros). Los resultados demuestran que la influencia del efluente de la EDAR sobre la cantidad de partículas finas en el río receptor es estacional, y que, durante el periodo seco, las partículas finas ricas en materia orgánica procedentes del efluente son utilizadas de forma eficiente por organismos heterótrofos.

**ABSTRACT:**

Fine particulate matter is a fundamental component of fluvial ecosystems and through its study we are able to understand many ecological processes, as well as the metabolic activity of the river. Intermittent urban rivers have little dilution capacity during most of the year, and therefore, effluents from waste water treatment plants (WWTP) can substantially modify the quantity and quality of fine particulate matter. The extent of these inputs and how they influence metabolic activity in the receiving river is still unknown. The objective of the present work was to explore the effect of the entrance of the Santa María de Palautordera WWTP effluent on the quantity and quality of fine particulate matter, as well as to explore how these inputs affect the efficiency of the microbial metabolic activity (MMAE) of aerobic heterotrophic microorganisms. The results showed a clear increase in the amount of fine particulate matter downstream of the WWTP effluent, which extended throughout the studied reach (~1 km) during the dry period, when the effluent from the WWTP constituted between 60 - 100% of the flow. Regarding the quality of the fine particulate matter, during the dry period we observed that the percentage of organic matter (% OM) was significantly higher downstream than upstream of the effluent input of the WWTP. In contrast, the increase in %OM and the MMAE of the fine particles was more local (on the scale of hundreds of meters). The results show that the influence of the WWTP effluent on the quantity of fine particles in the receiving river is seasonal, and that, during the dry period, the fine particles rich in organic matter from the effluent are used efficiently by heterotrophic organisms.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	8
<b>3. ÁREA DE ESTUDIO</b> .....	9
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	9
4.1. Muestreo de campo.....	9
4.2. Análisis de laboratorio.....	10
4.2.1. Cuantificación de la materia fina particulada y contenido en materia orgánica	10
4.2.2. Análisis C:N.....	11
4.2.3. Estima de la eficiencia en la actividad metabólica microbiana (MMAE)..	11
4.2.4. Análisis de datos.....	12
<b>5. RESULTADOS</b> .....	13
5.1. Caracterización hidrológica.....	13
5.2. Diferencias en la cantidad y calidad de las partículas finas aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR.....	14
5.3. Diferencias estacionales en la cantidad y calidad de la materia fina particulada aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR.....	14
5.4. Patrón longitudinal de la acumulación y calidad de la materia fina particulada aguas abajo del efluente de la EDAR.....	17
5.5. Actividad metabólica asociada a la materia fina particulada.....	19
<b>6. DISCUSIÓN</b> .....	20
<b>7. CONCLUSIONES</b> .....	23
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	23

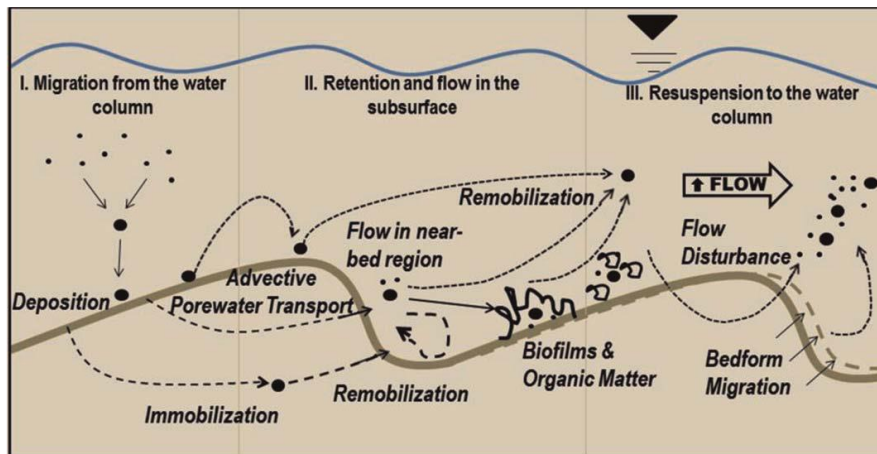
## 1. INTRODUCCIÓN

Los ríos transportan agua, nutrientes, y material particulado y disuelto, incluida materia orgánica, desde las cabeceras de las cuencas hidrográficas hasta el mar. Como consecuencia de los procesos físicos y biológicos, como la sedimentación gravitacional y el procesamiento aguas arriba de hojas muertas y restos de madera (Tank et al. 2010), el tamaño de las partículas de materia orgánica disminuye progresivamente río abajo.

La materia orgánica particulada fina (FPOM) de menos de 1 mm de diámetro representa una gran parte de la materia orgánica en los ecosistemas fluviales (Cushing et al. 1993), y constituye aproximadamente el 40% del flujo de carbono total. La FPOM está compuesta de carbono, nitrógeno y fósforo, y es un sustrato fundamental para las comunidades microbianas (Cushing et al. 1993; Hope et al. 1994). De hecho, la FPOM contribuye desproporcionadamente al metabolismo heterotrófico microbiano, incluso más que el carbono orgánico disuelto (DOC), porque es generalmente más lábil que el DOC (Stutter et al., 2007). Por tanto, cambios en la disponibilidad y calidad de la FPOM pueden afectar el metabolismo fluvial, la producción primaria y secundaria, la dinámica de nutrientes, y la abundancia y composición de invertebrados en las comunidades de arroyo (Benke et al. 1984, Jones 1997, Webster et al. 2000, Crenshaw et al. 2002, Fischer et al. 2002, Acuña et al. 2004, Artigas et al. 2004, Robinson & Jolidon 2005).

La zona hiporreica es un área donde se mezclan aguas superficiales y subterráneas. Esta zona es importante para la calidad del agua ya que el alto intercambio de agua, nutrientes y microorganismos promueve procesos biogeoquímicos, ecológicos e hidrológicos (Boulton et al. 2010, Battin et al. 2008). La zona hiporreica mejora la salud de los ecosistemas fluviales al influir en los procesos clave, como la actividad metabólica y el ciclo de nutrientes (Brunke & Gonser, 1997), especialmente los primeros ~5 cm, que es donde se deposita y filtra la mayoría de las partículas finas (Drummond et al. 2017, Harvey et al. 2012; Knapp et al. 2017). Las partículas finas, incluyendo la FPOM, se transportan aguas abajo a través de una serie de eventos de sedimentación y resuspensión en áreas de almacenamiento, que pueden ser tanto superficiales como subsuperficiales (hyporrheos), y que abarcan una amplia gama de tiempos de retención (Boano et al. 2014, Drummond et al. 2014) (Fig. 1). El tiempo entre el momento de sedimentación y resuspensión controla la oportunidad del procesamiento biogeoquímico de la FPOM, que dependerá de la labilidad de sus componentes (Battin et al. 2008, Aufdenkampe et al. 2011).

El porcentaje de materia orgánica (%OM) es un indicador común de la calidad de la FPOM, por lo que valores más altos de %OM representarían una mayor calidad (Tank et al. 2010). Otro indicador común de la calidad de materia orgánica es la relación molar C:N, por lo que cuanto mayor sea C:N la degradación de la materia orgánica será más lenta y a menor C:N la calidad aumenta al incrementarse la degradación de la materia orgánica particulada (Nogaro et al. 2007). En este sentido Crenshaw et al. (2002), mostraron un aumento de los procesos metabólicos y biogeoquímicos (respiraciones aeróbicas y anaeróbicas) en sedimentos hiporreicos asociados con la entrada de materia orgánica particulada con una baja relación C:N..



**Fig. 1.** Modelo conceptual de los procesos que influyen en la retención de carbono orgánico particulado en el río: (I) migración desde la columna de agua, (II) retención y flujo en la zona hiporrheica, y (III) resuspensión a la columna de agua. (Drummond et al., 2014)

La actividad antrópica puede alterar los patrones temporales y espaciales de materia orgánica en ecosistemas fluviales. Las entradas difusas y puntuales de aguas afectadas por actividades silvícolas, agrícolas, ganaderas y urbanas conllevan incrementos en la disponibilidad de nutrientes y también de materia orgánica en arroyos (Golladay et al. 1989, Webster et al. 1990), lo que puede afectar la actividad metabólica y la estructura trófica de las comunidades fluviales (Peterson et al. 1985, 1993; Bernal et al. 2017a, 2017b). Las estaciones de depuración de aguas residuales (EDAR), aportan gran cantidad de nitrógeno (N) y fósforo (P) inorgánico, y también de materia particulada fina. Sin embargo, aún disponemos de poca información sobre la cantidad y calidad de esta materia orgánica, y cómo ésta influye sobre el funcionamiento de los ecosistemas fluviales, especialmente en ríos de régimen intermitente dónde la capacidad de dilución del río receptor es limitada.

El presente máster se enmarca dentro de un estudio más amplio que tiene por objetivo explorar el efecto a distintas escalas espaciotemporales de la entrada de nutrientes, patógenos, y materia particulada fina del efluente de la EDAR de Sta. María de Palautordera sobre el metabolismo y el funcionamiento del río receptor. Sta. María de Palautordera es un río intermitente, y para poder capturar la dinámica estacional de los procesos estudiados el equipo de investigación realizó muestreos bimensuales durante el año 2017 a lo largo de un tramo de ~1 km durante el periodo húmedo y seco. Para obtener algunas de las variables recogidas en este máster, como la cantidad de materia total particulada (TFPM), las muestras tuvieron que procesarse inmediatamente. Durante el presente máster, tuvimos ocasión de terminar el procesado de esas muestras, y medir la materia orgánica particulada fina (FPOM), así como la relación molar C:N. A partir del TFPM y el FPOM inferimos el porcentaje de materia orgánica (%OM) que usamos como un indicador de la calidad del TFPM, junto con la relación molar C:N. Por último, usamos resazurin, un trazador inteligente, para estudiar cómo la variación en la calidad de las partículas



finas influye sobre el metabolismo del río receptor, y en particular sobre la eficiencia de la actividad metabólica de los microorganismos heterótrofos (MMAE). Las incubaciones con resazurin deben realizarse horas después de recoger las muestras, por tanto, se realizaron durante 2017, previamente al desarrollo de este máster. En el presente máster tuvimos ocasión de tratar la base de datos generada y relacionarla con las variables de calidad de materia orgánica.

## **2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

El objetivo de este trabajo fue explorar el efecto de la entrada del efluente de la EDAR sobre la cantidad de materia fina particulada y su calidad, y cómo estas entradas afectan el metabolismo fluvial.

Este objetivo se articuló en 4 objetivos específicos:

1. Explorar los cambios en la cantidad (TFPM, FPOM) y calidad (%OM y C:N) de materia fina particulada acumulada en la superficie del hyporrheos aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR.
2. Investigar si la acumulación y la calidad de la materia fina particulada procedente del efluente de la EDAR presenta un patrón estacional asociado al régimen hidrológico.
3. Explorar si los cambios en la cantidad y la calidad de materia fina particulada asociados a las entradas del efluente de la EDAR son de ámbito local (sólo detectables cerca de la fuente puntual) o si se propagan aguas abajo.
4. Estudiar cómo la calidad de la materia fina particulada influye sobre la actividad metabólica de los microorganismos heterótrofos del río receptor.

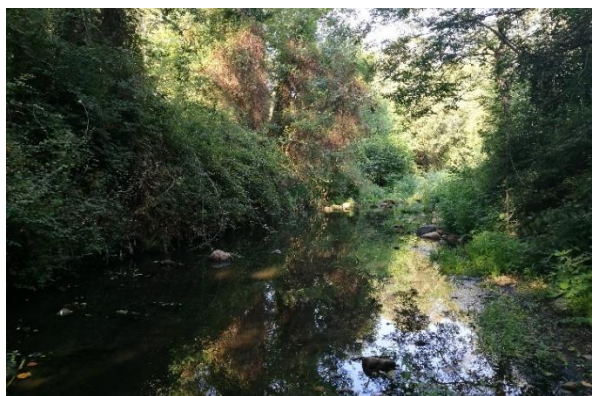
Las expectativas asociadas a estos objetivos son:

1. La cantidad de materia fina particulada, así como su porcentaje de materia orgánica, incrementará aguas abajo porque el efluente de la EDAR es una fuente constante de partículas finas ricas en materia orgánica. Por esta misma razón, se espera un decremento en la relación C:N de la materia fina particulada aguas abajo del efluente de la EDAR.
2. El impacto de la entrada del efluente de la EDAR sobre el río receptor será más acusado en la época seca que en la época húmeda, debido a una menor capacidad de dilución.
3. Si el efecto del efluente de la EDAR sobre la cantidad y calidad de partículas finas es local (y por tanto, no persiste aguas abajo), esperaríamos que la cantidad de TPFM y FPOM, así como el %OM, disminuya aguas abajo, mientras que la relación C:N incremente.
4. Cuanto mayor sea la calidad de la materia fina particulada (definida en base al %OM y C:N) mayor será la actividad metabólica asociada y por tanto mayores los valores de MMAE.

### 3. ÁREA DE ESTUDIO

La Tordera drena 879 km<sup>2</sup> y tiene una longitud de 59 km (Liquete et al. 2009). Se origina en el macizo de Montseny (Vallés Oriental, Catalunya) (1684 m e.n.m.) y desemboca en el mar mediterráneo. En toda la cuenca, dominan las tierras forestales (77%), especialmente en las zonas de cabecera. La agricultura (16%) y las áreas urbanas y la industria (7%) también son importantes, especialmente en el tramo bajo del río (Caille et al. 2007). La pluviosidad media anual para esta zona es de 745 mm (www.climate-data.org, 1982 hasta 2012). La temperatura media anual es de 15.2 °C, y los promedios mensuales oscilan entre 23.3 °C (julio) y 7.9 °C (enero) (www.climate-data.org, desde 1982 hasta 2012). El régimen hidrológico del río Tordera está influenciado por el clima mediterráneo. El caudal exhibe eventos hidrológicos extremos que abarcan desde tormentas e inundaciones en otoño y primavera, y períodos de sequía en verano. Las inundaciones generalmente son cortas en el tiempo (del orden de horas a algunos días), pero de gran intensidad. En contraste, los períodos de sequía se prolongan en el tiempo. Ocurren naturalmente en verano, entre los meses de junio y septiembre (Ejarque et al. 2017).

El tramo de estudio seleccionado para este trabajo se encuentra aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR de Santa María de Palautordera (lat. 41.68, long. 2:46). Sta. María de Palautordera es un municipio de 9.286 habitantes (www.smpalautordera.cat, 2007), que es el primero de los 7 efluentes de EDARs que descargan en el río a lo largo de su curso. La EDAR de Sta. María Palautordera se puso en marcha en 1999 por la empresa Compañía General de Aguas de Cataluña, S.A. y sus dimensiones corresponden a 11.663 equ/habitante. (www.gencat.cat, 2007). Asiste a dos municipios (Sta. María Palautordera y St. Esteve de Palautordera)



**Fig. 2** Fotografía del tramo estudiado (junio 2017)

### 4. MATERIAL Y MÉTODOS

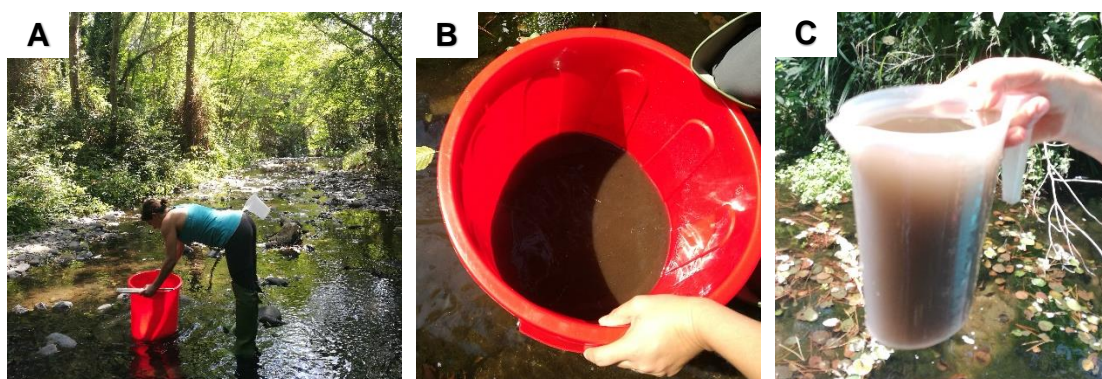
#### 4.1. Muestreo de campo

Se seleccionaron 8 puntos de muestreo, uno antes y siete después de la entrada del efluente de la EDAR: 800 m aguas arriba y 5, 100, 300, 530, 623, 720 y 820 metros aguas abajo. Las muestras fueron recogidas durante los meses de febrero, abril, junio, julio y noviembre de 2017. En cada punto se recogieron 3 muestras de partículas finas en zonas de flujo moderado.

Para recoger las partículas finas se empleó el método modificado de Petticrew et al. (2007). Se sumergió un balde sin base, de 45.5 cm de diámetro, y se ancló en la zona hiporreica (hasta 3-4 cm de profundidad). Se removieron enérgicamente los primeros centímetros con las manos para resuspender todas las partículas finas, esperamos 10 segundos para que las partículas gruesas precipitasen y sólo quedasen suspendidas las partículas más finas (10-100  $\mu\text{m}$ ). Se recogió ~1 litro de agua, 500 ml para la cuantificación de materia fina particulada (Sec. 4.2.1), 500 ml para análisis de C:N (Sec. 4.2.2) y 50 ml para calcular la actividad metabólica asociada a las partículas finas (Sec. 4.2.3). Mientras generamos las distintas alícuotas, removimos la muestra con una varilla, garantizando así una distribución homogénea de las partículas finas en la muestra.

En cada punto de muestreo se realizó una medida de la profundidad del agua (altura en cm) de la columna de agua dentro del balde de muestreo con la ayuda de una regla. Con las dimensiones conocidas de la cubeta y la profundidad medida, se calculó el volumen de agua en el balde, dato fundamental para calcular la cantidad de partículas finas resuspendidas. (Sec. 4.2.1).

Además, se midió el caudal ( $Q$ , en L / s) con el método "cross-sectional" al inicio y al final del tramo (Hauer & Lamberti, 2011).



**Fig. 3:** Fotografías de (A) Cubeta de agua anclada sobre el hiporreos, (B) partículas finas resuspendidas de la zona hiporreica superficial y (C) muestra de 1 litro de muestra de agua y materia particulada fina resuspendida.

## 4.2. Análisis de laboratorio

### 4.2.1. Cuantificación de la materia fina particulada y contenido en materia orgánica

Para estimar la materia total particulada fina (TFPM), la materia orgánica particulada fina (FPOM), y el porcentaje de materia orgánica (%OM), usamos el método de masa seca sin cenizas (AFDM) (American Public Health Association, 1998). Para cada muestra, se filtró un volumen conocido (200-300 ml) por medio de un kitasato y una bomba de filtración al vacío. Los filtros eran de fibra de vidrio (GF / F 0.7 micras de diámetro, Whatman, Reino Unido), y fueron secados y tarados previamente. La materia fina particulada capturada por el filtro se secó en una estufa a 50 °C durante 2 o 3 días, y posteriormente se pesó para obtener el peso seco de la materia fina particulada. La materia total particulada fina (TFPM) se calculó como la diferencia

de peso entre los filtros antes y después de la estufa. Esta medida nos informa del contenido total de materia fina particulada presente en la muestra, tanto de la fracción orgánica como de la inorgánica.

A continuación, se colocaron los filtros en la mufla a 500 °C durante 5 horas y después otra vez a la estufa a 50 °C durante 1 o 2 días más. Tras la mufla, sólo queda la materia inorgánica en los filtros. Por lo tanto, la diferencia de peso antes y después de la mufla nos permite calcular el peso de la materia orgánica particulada fina (FPOM). Finalmente, el porcentaje de materia orgánica (% OM) se calculó dividiendo FPOM entre TFPM y multiplicándolo por 100.

Para estimar la cantidad total de materia fina particulada acumulada en la superficie del hiporheos en cada punto de muestreo, se dividió el peso obtenido de TFPM y FPOM entre el volumen de agua filtrado, y posteriormente se multiplicó esa cantidad por el volumen total de agua dentro del cubo utilizado en el campo. A continuación, se dividió la cantidad total obtenida entre el área de la base del cubo (0.163 m<sup>2</sup>). Por consiguiente, a lo largo de este trabajo nos referimos a la TFPM y la FPOM en g/m<sup>2</sup>.

#### 4.2.2. Análisis C:N

Para la estimación de la relación C:N se usó la alícuota de 500 mL la cual se mantuvo a una temperatura de 50 °C en la estufa durante ~2 semanas. Una vez la muestra estuvo seca, se retiraron con sumo cuidado las partículas finas del recipiente, y se trituraron con la ayuda de un mortero con la finalidad de obtener una muestra más homogénea. Usamos una microbalanza MX5 para pesar una alícuota de cada muestra (5000 – 6000 mg) que fue encapsuladas junto con una pizca de óxido de vanadio, y realizamos una réplica por muestra. Las muestras para C:N se analizaron en los Servicios científico Técnico de la Universidad de Barcelona. El porcentaje de C y N de la muestra analizada se transformó en mg multiplicando el porcentaje por el peso encapsulado. Finalmente dividimos cada valor por el peso molecular (12.0107 y 14.0067 g/mol para C y N respectivamente) para obtener la relación C:N molar.

#### 4.2.3. Estima de la eficiencia en la actividad metabólica microbiana (MMAE).

Para estimar la actividad metabólica microbiana de cada muestra, realizamos incubaciones en el laboratorio con el trazador inteligente Resazurin (Raz)- Resorufin (Rru). El trazador inteligente resazurin (Raz) - resorufin (Rru) (Haggerty et al. 2009) se utilizó para cuantificar la actividad metabólica microbiana aeróbica (un proxy de la respiración aeróbica). Raz (también conocido como azul de Alamar) es un colorante de fenoxazina sensible a las condiciones redox (Bueno et al. 2002) que pierde un ion de oxígeno irreversiblemente en condiciones de reducción para convertirse en Rru (color rosa) (González-Pinzón et al. 2012). Rru también puede experimentar una reducción reversible adicional a hidroresorufina, pero no se favorece en presencia de oxígeno (Haggerty et al., 2008). La reducción de Raz a Rru es un indicador bien conocido de la presencia de bacterias vivas, especialmente bacterias aerobias (Karakashev et al., 2003) y puede utilizarse para estimar la actividad metabólica microbiana aeróbica (MMA) (Haggerty et al., 2008; González-Pinzón et al., 2014). Los experimentos se realizaron dentro de las 24 horas

posteriores a la fecha de muestreo. Cada vial de muestra se mezcló a fondo, se niveló a 40 ml y se mantuvo en un área fría (4°C) y oscura hasta el inicio del experimento. Para cada experimento, se preparó un inyectado de Raz (0,22 g/ml) recién preparado. Se añadieron 400 µL del inyectado de Raz a cada contenedor de muestra. Los viales se agitaron cada 5 minutos a lo largo del experimento para garantizar una mezcla suficiente en todo el contenido y se cubrieron para evitar la contaminación lumínica. Se tomaron un total de 4 muestras durante el experimento de 3 horas. En cada tiempo de muestreo, las muestras se agitaron minuciosamente para homogenizar las partículas dentro del vial de muestra, se extrajeron 4 ml y se filtraron a través de un filtro GF/F de poro de 0,7 µm (suministrado por Whatman, Reino Unido). El primer ml filtrado fue descartado, mientras que los 3 ml restantes se trasvasaron a un vial y se mantuvieron en la oscuridad hasta que se analizó la fluorescencia en el espectrofluorómetro (RF Shimadzu, Kyoto, Japón).

Antes de analizar cada muestra en el espectrofluorómetro, éstas se tamponaron añadiendo 0,3 µl de solución tampón (pH 8 con una solución de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O 1 molar y NaOH 1 molar a partes iguales). La fluorescencia de Raz y Rru es constante por encima de pH 8, pero disminuye bruscamente por debajo de pH 6,5 (Kangasniemi 2004; Bueno et al. 2002). En consecuencia, las muestras se mezclaron en una relación de tampón a muestra de 1:10 (Haggerty et al. 2008). Las muestras se colocaron en una cubeta de cuarzo y se mantuvieron dentro de la cámara de muestras del espectrofluorómetro durante menos de 1 min para minimizar los cambios de temperatura (Haggerty et al. 2008). Las longitudes de onda de excitación y emisión para Raz fueron de 602 nm y la longitud de onda de emisión fue de 616 nm, mientras que Rru fue de 570 nm y 585 nm respectivamente (Bueno et al. 2002). Usamos una recta patrón con 6 concentraciones conocidas de Raz y Rru para transformar la lectura de fluorescencia a concentración (µg / L).

Para calcular actividad metabólica microbiana aeróbica (MMA) se calculó la tasa de transformación de Raz a Rru durante el periodo de incubación (en 1/h), a partir de los cambios en la relación Rru y Raz en escala logarítmica (Haggerty 2013). El MMA se ponderó por la masa de TFPM (sección 4.2.1) presente en cada muestra de 40 ml utilizada durante el experimento de incubación. De este modo, obtuvimos, la MMA por g de TFPM (1/h/gTFPM). Esta variable nos informa sobre la eficiencia de la actividad metabólica microbiana (MMAE).

#### 4.2.4. Análisis de datos

Los muestreos realizados durante la campaña del 2017 se clasificaron en dos periodos: seco y húmedo, en función de la capacidad de dilución del río receptor mediante el cálculo del factor de dilución, el cual fue estimado mediante la conductividad de acuerdo a:  $F.D. = 100 * (Cond\_abajo - Cond\_arriba) / (Cond\_EDAR - Cond\_arriba)$ . Consideramos un factor de dilución del 40% para distinguir entre los dos periodos. El periodo húmedo comprendió los muestreos de febrero y abril, mientras que el periodo seco abarcó los muestreos de junio, julio y noviembre. Los datos de conductividad específica para determinar el factor de dilución se

obtuvieron de un estudio en paralelo realizado en el mismo tramo (Bernal, comunicación personal).

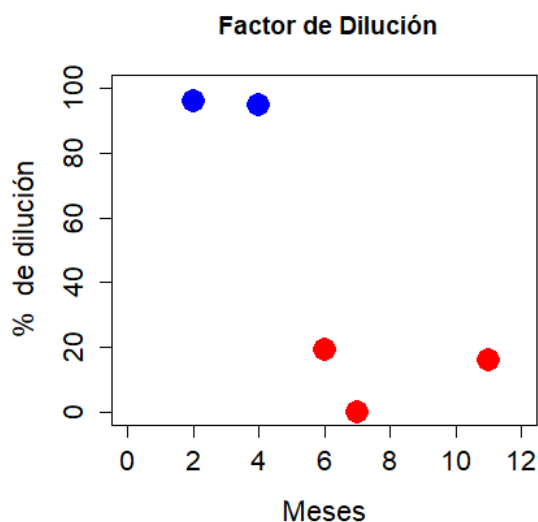
Se usaron Wilcoxon-tests para determinar si las diferencias aguas arriba y aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR para TFPM; FPOM; %OM, C:N y MMAE fueron estadísticamente significativas. Para ello usamos los datos recogidos 800 m aguas arriba y 5 m aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR. Los análisis estadísticos se realizaron para todos los datos recogidos durante el periodo de estudio (n = 5 campañas), también se realizó un análisis diferenciado entre periodo seco (n = 3 campañas) y húmedo (n= 2 campañas), es preciso señalar que para el análisis de la relación molar C:N solo se contó con una campaña para el periodo húmedo. Optamos por tests no paramétricos debido a que el número de campañas fue limitado y no pudimos asumir una distribución normal.

Se usaron modelos de regresión lineal para explorar y analizar patrones longitudinales, patrones temporales (diferenciando entre periodo húmedo y seco) y también para analizar las relaciones entre las variables estudiadas. En todos los casos, los análisis estadísticos se basaron en las medianas de las réplicas recogidas en cada punto de muestreo. Todas las pruebas estadísticas y gráficos fueron realizados usando el software RStudio (versión 3.4.2)

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterización hidrológica

Durante el periodo de estudio, los caudales medidos aguas abajo variaron entre 16 y 627.4 L/s, mientras que el factor de dilución oscilo entre el 0 y el 96% (Fig. 4). Durante la campaña de julio 2017, el río aguas arriba se encontraba seco, y la totalidad del agua que circulaba aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR era agua residual tratada.

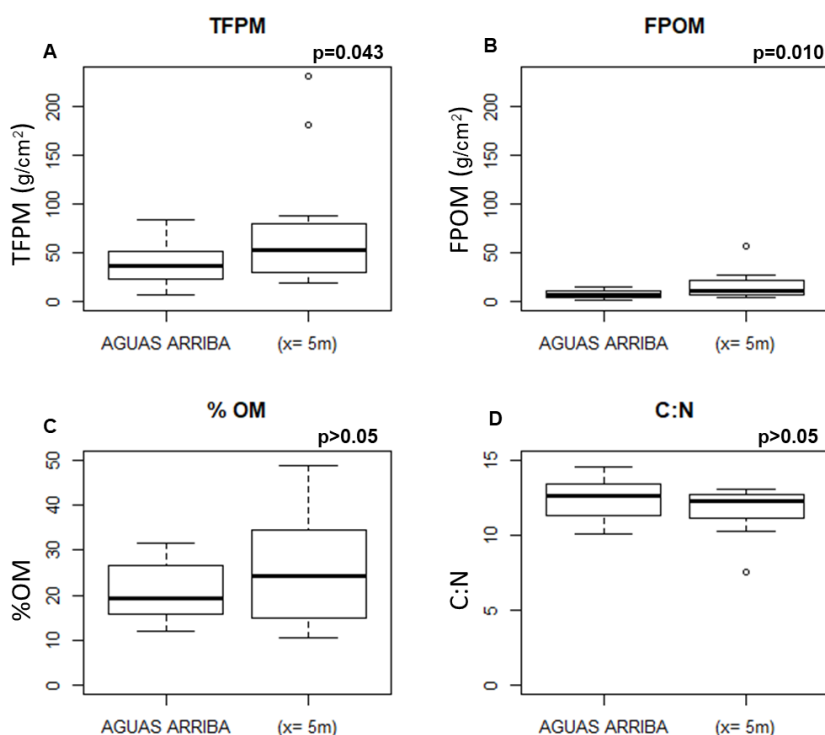


**Fig. 4:** Diagrama de dispersión del factor de dilución (en porcentaje) para las distintas campañas realizadas en Sta Maria de Palautordera en el 2017. Los círculos azules corresponden a la época húmeda (factor de dilución >40%), y los círculos rojos corresponden a la época seca (factor de dilución <40%)

## 5.2. Diferencias en la cantidad y calidad de las partículas finas aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR

La cantidad de materia fina particulada (TFPM y FPOM) fue mayor por debajo que por encima de la entrada del efluente de la EDAR (en ambos casos, Wilcoxon test,  $p < 0.05$ ) (Fig. 5A y B). La mediana de TFPM fue 36.42 y 52.64  $\text{g}/\text{cm}^2$  aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente, respectivamente. La mediana de FPOM fue 6.94 y 11.03  $\text{g}/\text{cm}^2$  aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR respectivamente.

Sin embargo, la calidad de la materia fina particulada (%OM y C:N) fue similar aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR (en ambos casos, Wilcoxon test,  $p > 0.05$ ) (Fig. 5C y D). La mediana del %OM de las partículas finas recogidas tanto aguas arriba como aguas abajo de la entrada del efluente fue 20.27%. La mediana de la relación molar C:N aguas arriba y aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR fue 12.24.



**Fig. 5.** Diagrama de cajas de (A) materia total particulada fina (TFPM), (B) materia orgánica particulada fina (FPOM), (C) porcentaje de materia orgánica (%OM) y (D) relación molar Carbono – Nitrógeno (C:N), aguas arriba (800 metros por encima) y aguas abajo (5 metros por debajo) de la entrada del efluente de la EDAR. Las cajas representan la amplitud intercuartílica, la línea negra es la mediana, mientras que los círculos que sobresalen son las observaciones atípicas. La significación (p valor) del test de Wilcoxon se indica en cada caso.

## 5.3. Diferencias estacionales en la cantidad y calidad de la materia fina particulada aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR.

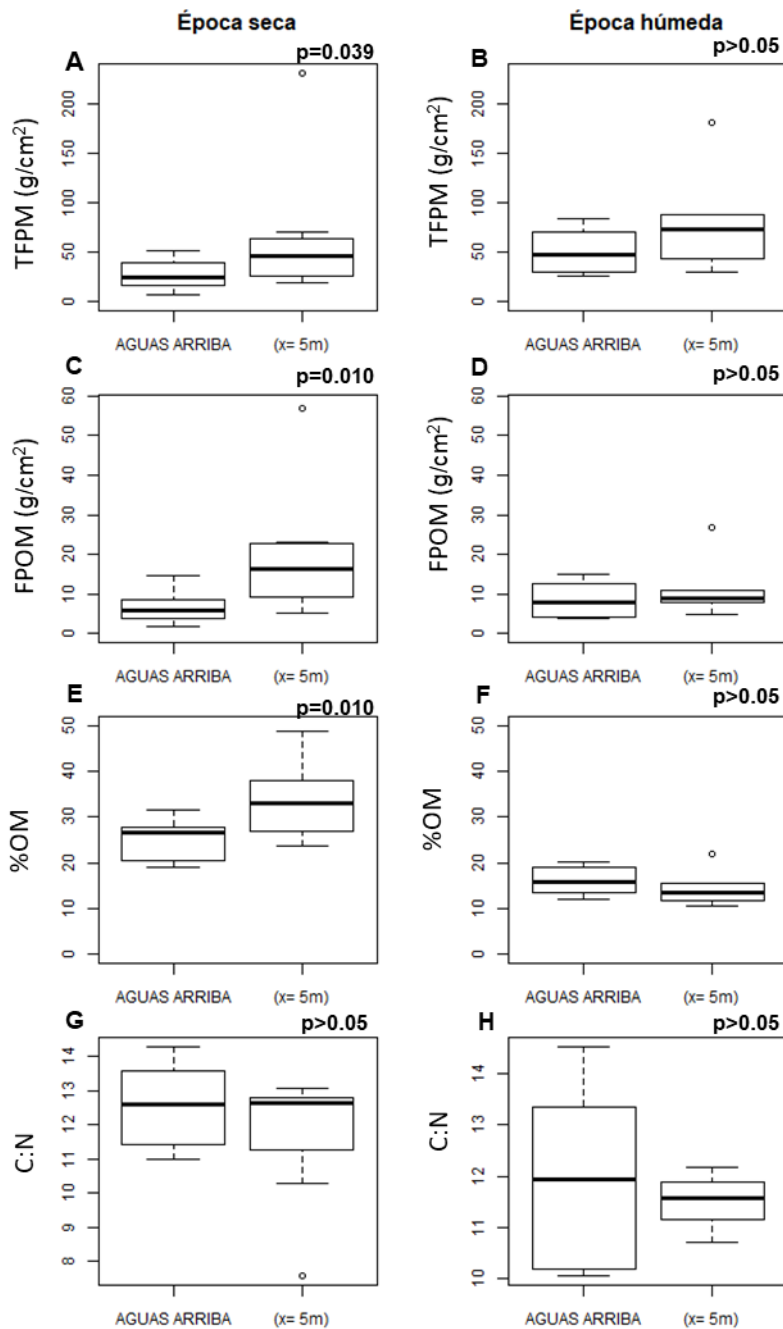
La época del año influyó sobre las diferencias entre la cantidad y calidad de la materia fina particulada aguas arriba y abajo de la entrada del efluente de la EDAR. Se encontró un

incremento significativo en la cantidad de materia fina particulada sólo en el periodo seco, siendo los valores más altos aquellos por debajo de la entrada del efluente de la EDAR (Wilcoxon test,  $p < 0.05$ , Fig. 6A y C). Las variaciones de las medianas entre aguas arriba y abajo en época seca fueron las siguientes: el TFPM incrementó de 24.86 a 46.05 g/cm<sup>2</sup> y la FPOM incrementó de 6.0 a 16.47 g/cm<sup>2</sup>.

La calidad de la materia fina particulada difirió aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR, sólo durante el período seco y sólo para el %OM. En el periodo seco, la mediana del %OM incrementó de 26.68 a 33.09 g/cm<sup>2</sup> aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR, respectivamente (Wilcoxon test,  $W = 48$ ,  $p = 0.0010$ , Fig. 4E). En cambio, la relación molar C:N no mostró diferencias estadísticamente significativa aguas arriba y aguas debajo de la entrada del efluente del EDAR durante el periodo seco (Wilcoxon test,  $p > 0.05$ , Fig. 6G)

Durante el periodo húmedo, la diferencia entre aguas arriba y aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR no fueron estadísticamente significativas (Wilcoxon test,  $p > 0.05$ , Fig. 6B, D, F, H).



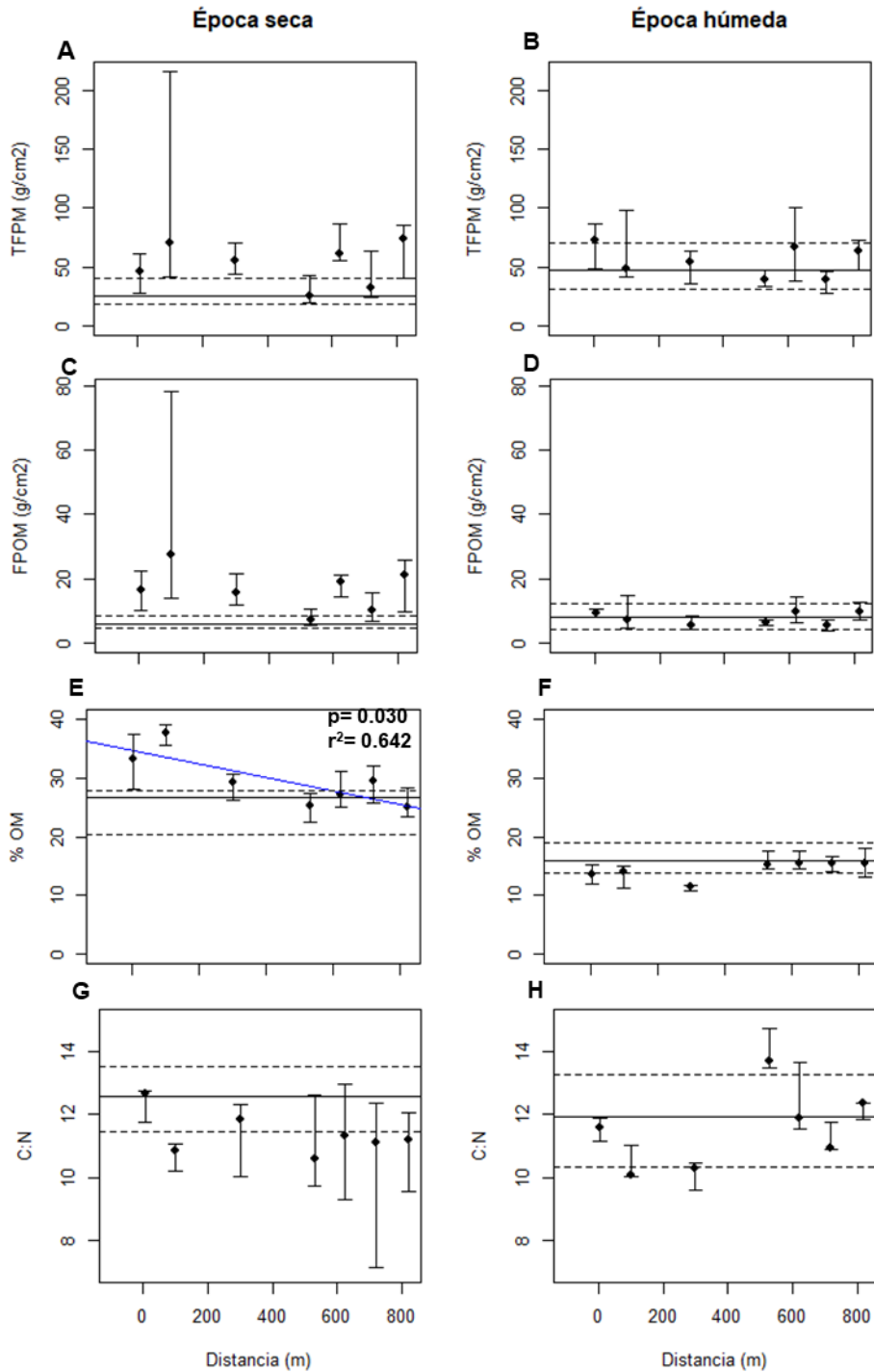


**Fig. 6:** Diagrama de cajas de (A, B) materia total particulada fina (TFPM), (C, D), materia orgánica particulada fina (FPOM), (E, F) porcentaje de materia orgánica (%OM) y (G, H) relación molar Carbono – Nitrógeno (C:N), aguas arriba (100 metros por encima) y aguas abajo (5 metros por debajo), de la entrada del efluente de la EDAR, diferenciadas entre época seca y época húmeda. Las cajas representan la amplitud intercuartílica, la línea negra es la mediana, mientras que los círculos que sobresalen son las observaciones atípicas. La significación (p valor) del test de Wilcoxon test se indica en cada caso.

#### 5.4. Patrón longitudinal de la acumulación y calidad de la materia fina particulada aguas abajo del efluente de la EDAR.

La cantidad y la calidad de las partículas finas a lo largo del tramo estudiado difirió entre los dos periodos hidrológicos estudiados. Durante el periodo seco, la cantidad de la materia fina particulada (TFPM y FPOM) aguas abajo del efluente de la EDAR fue mayor que aguas arriba, y ese patrón se mantuvo a lo largo del tramo estudiado (Fig. 7 A y C). El % OM aguas abajo fue mayor que aguas arriba pero sólo cerca de la entrada del efluente de la EDAR. Sin embargo, el %OM disminuyó a lo largo del tramo, llegando a ser igual al observado aguas arriba después de unos 400 m (Fig. 7E). En cuanto a la relación molar de C:N, los valores por debajo del efluente de la EDAR se mantuvieron similares a los observados aguas arriba a lo largo de todo el tramo de estudio (Fig. 7G).

Durante el periodo húmedo, los valores de TFPM, FPOM, %OM, y C:N aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR fueron similar a los observados aguas arriba, y no observamos ningún patrón longitudinal estadísticamente significativo (Fig. 7B, D, F, H).



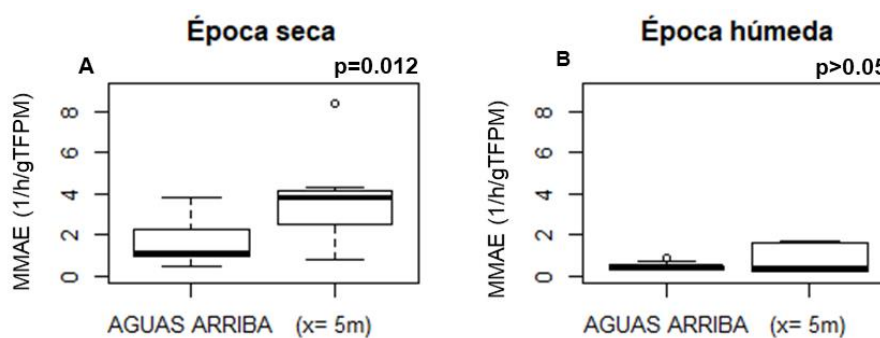
**Fig. 7:** Patrón longitudinal de (A, B) materia total particulada fina (TFPM), (C, D) materia orgánica particulada fina (FPOM), (E, F) porcentaje de materia orgánica (%OM) y (G, H) relación molar del Carbono – Nitrógeno (C:N), a lo largo de 820 m aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR de Sta. María de Palautordera en la época seca y la época húmeda. Los círculos son la mediana para cada transecto estudiado, las barras de error son el rango intercuartílico. Para cada panel, la línea continua negra representa la mediana aguas arriba de la entrada del efluente de la EDAR y las líneas discontinuas representan el rango intercuartílico. La línea azul indica si el patrón longitudinal es estadísticamente significativo (sólo panel E). En este caso, se indica también la bondad del ajuste ( $r^2$ ) y el p valor.

### 5.5. Actividad metabólica asociada a la materia fina particulada

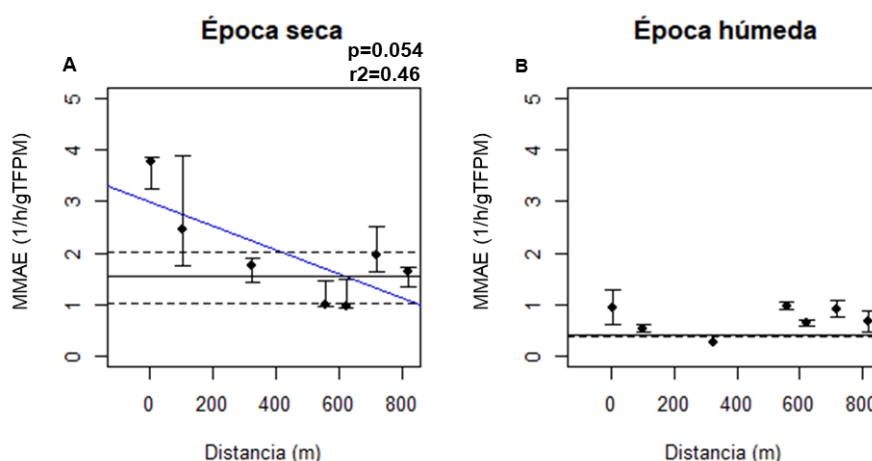
Durante el periodo seco, la MMAE fue mayor aguas abajo (3.78 1/h/g TFPM) que aguas arriba (1.12 1/h/g TFPM) de la entrada del efluente de la EDAR (Wilcoxon test,  $p < 0.05$ , Fig. 8A). En cambio, no hubo diferencia estadísticamente significativa en la MMAE en la época húmeda (Wilcoxon test,  $p > 0.05$ ) (Fig. 8B).

En relación al patrón longitudinal, la MMAE disminuyó de forma significativa a lo largo del tramo, pero sólo durante el periodo seco (Fig. 9A). Durante el periodo húmedo, la MMAE fue superior aguas abajo que aguas arriba de la entrada del efluente de la EDAR, pero no presentó ningún patrón longitudinal (Fig. 9B).

La MMAE se relacionó positivamente con la calidad de la materia fina particulada, aunque el patrón no fue consistente entre los dos indicadores considerados. El %OM de la materia fina particulada influyó positivamente sobre la eficiencia de los microorganismos heterótrofos aeróbicos ( $p < 0.05$ ,  $r^2 = 0.382$ ), sin embargo la relación molar C:N no influyó sobre la MMAE (Fig. 10).

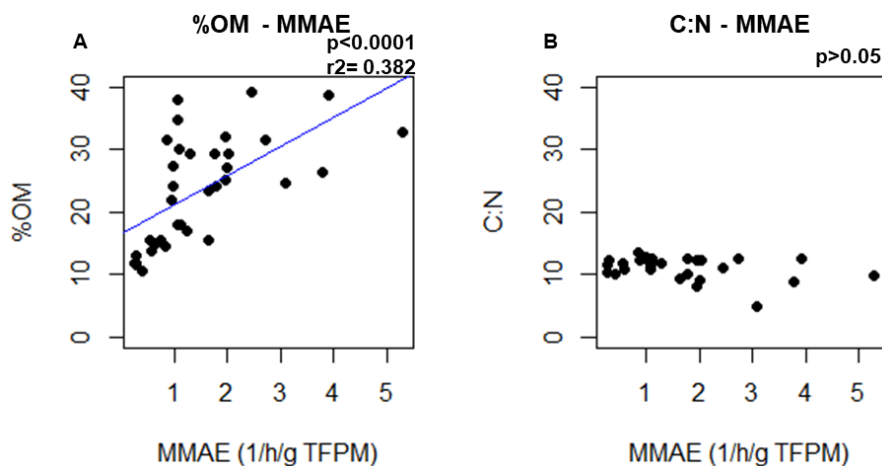


**Fig. 8:** Diagrama de cajas de (A, B) eficiencia de la actividad metabólica (MMAE) aguas arriba (800 metros por encima) y aguas abajo (5 metros por debajo) de la entrada del efluente de la EDAR, diferenciadas entre época seca y época húmeda. Las cajas representan la amplitud intercuartílica, la línea negra es la mediana, mientras que los círculos que sobresalen son las observaciones atípicas. La significación ( $p$  valor) del test de Wilcoxon se indica en cada caso.



**Fig. 9:** Dinámica longitudinal de (A, B) eficiencia de la actividad metabólica (MMAE), a lo largo de 820 m aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR de Sta. María de Palautordera en la época seca y la época húmeda. Los círculos son la mediana para cada punto de muestro, las

barras de error son el rango intercuartílico. Para cada panel, la línea continua negra representa la mediana aguas arriba de la entrada del efluente de la EDAR y las líneas discontinuas representan el rango intercuartílico. La línea azul indica si el patrón longitudinal es estadísticamente significativo (sólo panel A). En este caso, se indica también la bondad del ajuste ( $r^2$ ) y el p valor.



**Fig. 10:** Gráficos de dispersión de (A) porcentaje de materia orgánica (%OM) y la eficiencia de la actividad metabólica microbiana (MMAE) y (B) relación molar Carbono – Nitrógeno (C:N) y MMAE. Los puntos negros son las medianas por cada distancia de cada mes. y la línea azul indica que la relación es estadísticamente significativa (solo panel A). En este caso, se indica bondad del ajuste ( $r^2$ ) y el p valor.

## 6. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue explorar el efecto de la entrada del efluente de la EDAR de Sta. María de Palautordera sobre la cantidad y calidad de la materia particulada fina en el río receptor. Debido a que las estaciones de aguas residuales aportan materia orgánica particulada de forma continuada (Rauter et al. 2005, Ulseth & Hershey 2005), se esperaba un incremento en la cantidad y también la calidad de partículas finas ricas en materia orgánica. Acorde con nuestra expectativa, los resultados obtenidos evidenciaron que existe un incremento significativo en la cantidad de materia particulada fina (TFPM y FPOM), que fue casi el doble aguas abajo que aguas arriba de la entrada del efluente de la EDAR. Estudios previos en otros ríos Mediterráneos, muestran resultados similares, con incrementos de FPOM de hasta 3 veces aguas abajo de la entrada de efluentes de EDARs (Ruggiero et al. 2006).

Sin embargo, al analizar de forma diferenciada el periodo seco y húmedo, observamos que el incremento en la cantidad de partículas finas fue más acusado durante el periodo seco que durante el periodo húmedo. En cambio, durante el periodo húmedo no se observaron diferencias significativas aguas arriba y aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR para ninguna de las variables estudiadas (TFPM, FPOM, %OM y C:N).

Las diferencias observadas entre el periodo seco y el periodo húmedo en relación a la acumulación de la TFPM y FPOM, podrían explicarse por la baja movilidad de las partículas finas,

debido al escaso, incluso ausente, caudal del río. Esta influencia de la EDAR se pudo observar aguas debajo de la entrada del efluente durante todo el tramo estudiado (820 m). Así, durante el periodo seco el caudal no sobrepasó los 40 L/s, mientras que durante el periodo húmedo el caudal se situó por encima de los 600 L/s. Consecuente, el factor de dilución no sobrepasó el 40% durante el periodo seco, mientras que se mantuvo >90% durante el periodo húmedo. Esta explicación es coherente con estudios de hidráulica fluvial que señalan que el tiempo de retención de las partículas finas y su dinámica de resuspensión depende del caudal (Drummond et al. 2014, Harvey et al. 2012), y que los procesos de resuspensión suelen producirse principalmente durante grandes tormentas e inundaciones (Newbold et al. 1997, Pizzuto 2014, Buendía et al. 2014).

Además, la distribución de partículas finas ricas en materia orgánica a lo largo del canal puede tener implicaciones en el funcionamiento del ecosistema fluvial, a distintos niveles. Por un lado, la acumulación de partículas finas en el hiporheos puede causar obstrucción física, lo que reduce la permeabilidad y el intercambio de nutrientes y oxígeno con la zona hiporreica (Briggs et al. 2015; Hartwig & Borchardt 2014; Packman & MacKay 2003; Rehg et al. 2005). Por otro lado, el aumento de partículas finas ricas en materia orgánica en el hiporheos aumenta el área potencialmente colonizable por microorganismos, y esto, combinado con el flujo reducido de oxígeno, puede alterar los procesos biogeoquímicos y favorecer la desnitrificación siempre que el nitrato no sea limitante (Crenshaw et al. 2002, Harvey et al. al. 2013, 2016; Navel et al. 2011. Nogaro et al. 2007).

Al contrario que durante el periodo seco, durante el periodo húmedo no se observó ningún patrón longitudinal en la acumulación de las partículas finas aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR. Este resultado podría explicarse por una mayor advección asociada a un mayor caudal, una mayor dilución, y también por la resuspensión y posterior transporte de la materia fina particulada depositada durante periodos anteriores. En este sentido, en una adición experimental de partículas finas se cuantificó que hasta un 71% de las partículas finas inyectadas puede retenerse en condiciones de caudal basal, y que el 30% de esas partículas almacenadas pueden resuspenderse durante pequeñas crecidas, mientras que el 70% restante queda inmóvil durante un período más largo (Harvey et al. 2012).

En cuanto a la calidad de las partículas finas, esperábamos un incremento del %OM y un decremento en la relación molar C:N aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR, y cerca de la entrada puntual. Nuestras expectativas se cumplieron, aunque sólo parcialmente, ya que no observamos diferencias asociadas al C:N. Sin embargo, el %OM mostró un incremento significativo cerca de la fuente puntual, aunque sólo durante el periodo seco. Este valor fue disminuyendo progresivamente hasta llegar a valores similares a los registrados aguas arriba de la entrada del efluente de la EDAR, lo que podría explicarse como consecuencia de la actividad metabólica en el río, ya que el material más lábil, con un porcentaje de materia orgánica más alto y C:N más bajo, se procesa de forma más rápida (Tank et al. 2010, Stutter et al. 2007). Sin embargo, en nuestros resultados la relación molar C:N no nos aporta mucha información sobre la calidad de la materia orgánica, y por tanto, deberíamos y usar otros índices de calidad basados

en el tipo de compuestos que componen el FPOM (e.g. proteínas, sustancias proteicas, etc) para comprender mejor el efecto de la entrada del efluente de la EDAR sobre la calidad de la FPOM.

Al iniciar la investigación, esperábamos un incremento de la actividad metabólica de los microorganismos heterótrofos asociada al incremento en la calidad de partículas finas procedentes del efluente de la EDAR. En concordancia con esta idea, nuestros resultados mostraron un incremento significativo de la MMAE aguas abajo del efluente de la EDAR. Observamos que este incremento en la actividad heterotrófica se produjo cerca de la fuente puntual, coincidiendo con el incremento en el %OM de las partículas finas. Estos resultados son similares a los obtenidos por Ruggiero et al. (2006), donde observaron una actividad microbiana heterotrófica 7 veces mayor que aguas arriba de la entrada del efluente de una EDAR.

Sabemos que las bacterias se adhieren preferentemente a las partículas finas (Walters et al. 2014), e interactúan con la fracción móvil de FPOM, lo que mejora el metabolismo heterotrófico (Cushing et al. 1993; Battin et al. 2003, 2016). Al mismo tiempo, la acumulación de la materia particulada fina proporciona mayores oportunidades para la degradación de la materia orgánica por comunidades microbianas bentónicas e hiporreicas, especialmente cerca de la interfaz agua-sedimento (Stutter et al. 2007; Battin et al. 2008; Aufdenkampe et al. 2011). Si bien en nuestros resultados observamos mayor cantidad de materia orgánica particulada fina a lo largo de todo el tramo estudiado, sólo observamos un incremento de la actividad microbiana metabólica heterótrofa cerca de la entrada puntual. Por lo tanto, podemos inferir que la MMAE va disminuyendo según disminuye el %OM, probablemente como consecuencia de esa misma actividad microbiana.

El presente trabajo indica que los efluentes procedentes de EDARs incrementan tanto la cantidad como la calidad de la materia particulada fina, y que este incremento altera el metabolismo fluvial propiciando la respiración y el metabolismo heterotrófico en el río receptor. Nuestro trabajo también apunta a que el alcance de este impacto varía en función de las condiciones hidrológicas, siendo mucho mayor durante periodos secos, especialmente en ríos intermitentes con una capacidad de dilución muy limitada. Este tipo de alteraciones puede verse potenciado con el incremento de las urbanizaciones y el desarrollo de los núcleos urbanos. El incremento en las tasas de respiración asociadas a las partículas finas ricas en materia orgánica acompañado del exceso de nutrientes, aún acentuarían más el déficit de oxígeno (Rueda et al. 2002), que restringe la respiración aeróbica y conlleva episodios de eutrofización (Gücker et al. 2006). Todo esto puede llegar a niveles aún más críticos teniendo en cuenta los posibles escenarios de cambio climático. Se espera que el cambio climático altere aún más el comportamiento hidrológico de los arroyos (Laizé et al. 2014), acuciando los episodios hidrológicos extremos, por un lado, precipitación más intensa y, por otro, largos periodos de sequía (Kurz et al. 2017). Basándonos en los resultados obtenidos, un incremento en la intensidad y la duración de los periodos de sequía tornará aún más vulnerables a los ríos Mediterráneos, ya que el efluente de la EDAR puede convertirse en el caudal dominante durante periodos más largos y de acuerdo a

los resultados obtenidos, bajo estas condiciones se acentúan los cambios en la materia particulada fina y en el metabolismo fluvial.

## **7. CONCLUSIONES**

- El efluente procedente de la EDAR influyó sobre la cantidad de material fino del río receptor, ya que se observó mayor cantidad de TFPM y FPOM aguas abajo que aguas arriba de la entrada del efluente. Sin embargo, el efluente de la EDAR tuvo una menor incidencia sobre la calidad de las partículas finas ya que no se observaron diferencias significativas en cuanto a la calidad de la materia particulada fina (%OM y relación molar C:N). Además, la influencia de la EDAR sobre el funcionamiento del río se acentuó durante el periodo seco cuando se determinó un incremento significativo de TFPM, FPOM y %OM entre aguas arriba y aguas debajo de la entrada del efluente de la EDAR.
- Se acumuló TFPM y FPOM a lo largo de todo el tramo estudiado (820 m), lo que demuestra la propagación aguas debajo del material procedente del efluente de la EDAR. La influencia del efluente de la EDAR sobre las partículas finas se observó con claridad durante el periodo seco. En cambio, el efecto de la entrada de la EDAR a lo largo del tramo fue indetectable durante el periodo húmedo, cuando los valores aguas arriba y aguas abajo permanecieron similares, como consecuencia de un elevado factor de dilución y caudal.
- El %OM parece ser un mejor indicador de la labilidad de la materia orgánica fina que la relación molar C:N, ya que el primero mostró cambios asociados al metabolismo heterotrófico, mientras que el segundo no. Son necesarios más estudios profundizando en distintos indicadores de la calidad de materia orgánica y cómo varían en función de la actividad microbiana.
- La MMAE fue mayor aguas abajo de la entrada del efluente de la EDAR durante el periodo seco, cerca de la fuente puntual de FPOM y hasta 500 m aguas debajo de la entrada de la entrada del efluente de la EDAR. Esta disminución paulatina de MMAE puede explicarse por el decremento paralelo del %OM de la TFPM a lo largo del tramo de estudio. Este patrón sugiere que las partículas finas ricas en materia orgánica procedentes del efluente de la EDAR son utilizadas eficientemente por los microorganismos heterótrofos en las zonas más próximas del efluente durante el periodo seco.

## **8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Acuña V., Giorgi A., Muñoz I., Uehlinger U. & Sabater S. 2004. - Flow extremes and benthic organic matter shape the metabolism of a headwater Mediterranean stream. *Freshwat. Biol.*, 49, 960- 971.

Allan, J. D. (2004). Landscapes and riverscapes: The influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35:257-284.

American Public Health Association. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Method 10300 C,D. 20th Ed., Washington, D.C



- Artigas J., Romani A.M. & Sabater S. 2004. - Organic matter decomposition by fungi in a Mediterranean forested stream: contribution of streambed substrata. *Ann. Limnol. - Int. J. Limn.*, 40, 269-277.
- Aufdenkampe, A. K., E. Mayorga, P. A. Raymond, J. M. Melack, S. C. Doney, S. R. Alin, R. E. Aalto, and K. Yoo (2011), Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere, *Front Ecol. Environ.*, 9(1), 53–60, doi:10.1890/100014.
- Battin, T. J., L. A. Kaplan, J. D. Newbold, and C. M. E. Hansen (2003), Contributions of microbial biofilms to ecosystem processes in stream mesocosms, *Nature*, 426, 439–442, doi:10.1038/nature02152.
- Battin, T. J., L. A. Kaplan, S. Findlay, C. S. Hopkinson, E. Marti, A. I. Packman, J. D. Newbold, and F. Sabater (2008), Biophysical controls on organic carbon fluxes in fluvial networks, *Nat. Geosci.*, 1, 95–100, doi:10.1038/ngeo101.
- Battin, T. J., K. Besemer, M. M. Bengtsson, A. M. Romani, and A. I. Packman (2016), The ecology and biogeochemistry of stream biofilms, *Nat. Rev. Microbiol.*, 14, 251–263, doi:10.1038/nrmicro.2016.15.
- Benke A.C., Van Arsdall T.C., Gillespie G.M. & Parish F.K. 1984. - Invertebrate productivity in a subtropical blackwater river: the importance of habitat and life history. *Ecology*, 54, 25-63.
- Bernal, S., Merbt, S. N., Ribot, M., Casamayor, E. O., & Martí, E. (2017a). Day–night ammonium oxidation in an urban stream: the influence of irradiance on ammonia oxidizers. *Freshwater Science*, 36(2), 272–283. doi:10.1086/691797.
- Bernal, S., Segarra, A., Merbt, S., Martí, E. 2017b. Differences in ammonium oxidisers abundance and N uptake capacity between epilithic and epipsammic biofilms in an urban stream. *Freshwater Science* 37: 13-22.
- Briggs, M. A., F. D. Day-Lewis, J. P. Zarnetske, and J. W. Harvey (2015), A physical explanation for the development of redox microzones in hyporheic flow, *Geophys. Res. Lett.*, 42, 4402–4410, doi:10.1002/2015GL064200.
- Boano, F., J. W. Harvey, A. Marion, A. I. Packman, R. Revelli, L. Ridolfi, and A. Wörman (2014), Hyporheic flow and transport processes, *Rev. Geophys.*, 52, 603–679, doi:10.1002/2012RG000417.
- Boulton, A. J., Datry, T., Kasahara, T., Mutz, M., & Stanford, J. A. (2010). Ecology and management of the hyporheic zone: stream–groundwater interactions of running waters and their floodplains. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(1), 26–40. doi:10.1899/08-017.1

- Brunke, M., & Gonser, T. (1997). The ecological significance of exchange processes between rivers and groundwater. *Freshwater Biology*, 37(1), 1–33. doi:10.1046/j.1365-2427.1997.00143.x
- Bueno, C.; Villegas, M.L.; Bertolotti, S.G.; Previtali, C.M.; Neumann, M.G. & Encinas, M.V. (2002). The excited-state interaction of resazurin and resorufin with amines in aqueous solutions. *Photophysics and photochemical reaction, Photochemistry and Photobiology* 76(4): 385 – 390
- Caille, F., Riera, J.L., Rodr, B., 2007. Participatory scenario development for integrated assessment of nutrient flows in a Catalan river catchment. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 11 (6), 1843–1855
- Crenshaw C.L., Valett H.M. & Webster J.R. 2002. - Effects of augmentation of coarse particulate organic matter on metabolism and nutrient retention in hyporheic sediments. *Freshwat. Biol.*, 47, 1820-1831.
- Cushing, C. E., G. W. Minshall, and J. D. Newbold (1993), Transport dynamics of fine particulate organic matter in two Idaho streams, *Limnol. Oceanogr.*, 38(6), 1101–1115, doi:10.4319/lo.1993.38.6.1101.
- Drummond, J. D., A. F. Aubeneau, and A. I. Packman (2014), Stochastic modeling of fine particulate organic carbon dynamics in rivers, *Water Resour. Res.*, 50, 4341–4356, doi:10.1002/2013WR014665.
- Drummond, J. D., L. G. Larsen, R. Gonzalez-Pinzon, A. I. Packman, and J. W. Harvey (2017), Fine particle retention within stream storage areas at base flow and in response to a storm event, *Water Resour. Res.*, 53, 5690–5705, doi:10.1002/2016WR020202.
- Ejarque, E., Freixa, A., Vazquez, E., Guarch, A., Amalfitano, S., Fazi, S., ... Butturini, A. (2017). Quality and reactivity of dissolved organic matter in a Mediterranean river across hydrological and spatial gradients. *Science of The Total Environment*, 599-600, 1802–1812. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.05.113
- Fischer H., Wanner S.C. & Pusch M. 2002. - Bacterial abundance and production in river sediments as related to the biochemical composition of particulate organic matter (POM). *Biogeochemistry*, 61, 37-55.
- Fox, J., Ford, W., Strom, K., Villarini, G., & Meehan, M. (2014). Benthic control upon the morphology of transported fine sediments in a low-gradient stream. *Hydrological Processes*, 28(11), 3776–3788. <https://doi.org/10.1002/hyp.9928>
- Golladay S.W., Webster J.R. & Benfield E.F. 1989. - Changes in benthic organic matter following watershed disturbance. *Holarct. Ecol.*, 12, 96-105.
- González-Pinzón, R.; Haggerty, R.; & Argerich, A. (2014). Quantifying spatial differences in metabolism in headwater streams. *Freshwater Science* 33(3): 798–811

- Gücker, B.; Brauns, M. & Pusch, M. T. (2006). Effects of wastewater treatment plant discharge on ecosystem structure and function of lowland streams. *Journal of the North American Benthological Society* 25:313–329
- Haggerty, R.; Argerich, A. & Marti, E. (2008). Development of a “smart” tracer for the assessment of microbiological activity and sediment-water interaction in natural waters: The resazurin-resorufin system. *Water Resources. Research* 44
- Haggerty, R.; Marti, E.; Argerich, A.; von Schiller, D. & Grimm, N. B. (2009). Resazurin as a “smart” tracer for quantifying metabolically active transient storage in stream ecosystems. *Journal for Geophysical Research* 114
- Haggerty, R. (2013). Analytical solution and simplified analysis of coupled parent-daughter steady-state transport with multirate mass transfer, *Water Resources. Research* 49
- Hartwig, M., and D. Borchardt (2015), Alteration of key hyporheic functions through biological and physical clogging along a nutrient and fine-sediment gradient, *Ecohydrology*, 8(5), 961–975, doi:10.1002/eco.1571.
- Harvey, J. W., Drummond, J. D., Martin, R. L., McPhillips, L. E., Packman, A. I., Jerolmack, D. J., et al. (2012). Hydrogeomorphology of the hyporheic zone: Stream solute and fine particle interactions with a dynamic streambed. *Journal of Geophysical Research*, 117, G00N11. <https://doi.org/10.1029/2012JG002043>
- Harvey, J. W., J. K. Böhle, M. A. Voytek, D. Scott, and C. R. Tobias (2013), Hyporheic zone denitrification: Controls on effective reaction depth and contribution to whole-stream mass balance, *Water Resour. Res.*, 49, 6298–6316, doi:10.1002/wrcr.20492.
- Harvey, J. W. (2016), Hydrologic exchange flows and their ecological consequences in river corridors, in *Streams in a Changing Environment*, edited by J. Jones and E. Stanley, chap. 1, pp. 1–84, Academic, London.
- Hauer, F. & Lamberti G. A. (Eds.), *Methods in stream ecology* (2nd ed., pp. 249–271). Burlington, MA: Academic Press (Elsevier).
- Huang, Y. H., J. E. Saiers, J. W. Harvey, G. B. Noe, and S. Mylon (2008), Advection, dispersion, and filtration of fine particles within emergent vegetation of the Florida Everglades, *Water Resour. Res.*, 44, W04408, doi:10.1029/2007WR006290.
- Jones J.B. 1997. - Benthic organic matter storage in streams: influence of detrital import and export, retention mechanisms and climate. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 16, 109-119.
- Kangasniemi, K. H. (2004). Fluorescent diagnostics for imaging dissolved oxygen, Ph.D. thesis, Univ. of Texas at Dallas, Richardson, Texas

- Karakashev, D.; Galabova, D.; & Simeonov, I. (2003). A simple and rapid test for differentiation of aerobic from anaerobic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19: 233–238
- Knapp, J. L. A.; González-Pinzón, R.; Drummond, J. D.; Larsen, L. G.; Cirpka, O. A. & Harvey, J. W. (2017). Tracer-based characterization of hyporheic exchange and benthic biolayers in streams, *Water Resources Research* 53: 1575–1594
- Kurz, M. J.; Drummond J. D.; Martí, E.; Zarnetske, J. P.; Cullin, J. L.; Klaar, M. J.; Folegot, S.; Keller, T.; Ward, A. S.; Fleckenstein, J. H.; Datry, T.; Hannah, D. M. & Krause, S. (2017). Impacts of water level on metabolism and transient storage in vegetated lowland rivers: Insights from a mesocosm study. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 122
- Laizé, C. L. R.; Acreman, M. C.; Schneider, C.; Dunbar, M. J.; Houghton-Carr H. A.; Flörke, M. & Hannah, D. M. (2014). Projected Flow Alteration and Ecological Risk for Pan- European Rivers. *River Research and Applications* 30(3), 299–314
- Liquete, C., Canals, M., Ludwig, W., Arnau, P., 2009. Sediment discharge of the rivers of Catalonia, NE Spain, and the influence of human impacts. *Journal of Hydrology* 366, 76–88.
- Navel, S., F. Mermillod-Blondin, B. Montuelli, E. Chauvet, L. Simon, and P. Marmonier (2011), Water-sediment exchanges control microbial processes associated with leaf litter degradation in the hyporheic zone: A microcosm study, *Microb. Ecol.*, 61(4), 968–979, doi:10.1007/s00248-010-9774-7.
- Newbold, J. D., T. L. Bott, L. A. Kaplan, B. W. Sweeney, and R. L. Vannote (1997), Organic matter dynamics in White Clay Creek, Pennsylvania, USA, *J. North Am. Benthol. Soc.*, 23, 198–213, doi:10.1899/0887-3593(2004)023<0198:TROFIP>2.0.CO;2.
- Nogaro, G., F. Mermillod-Blondin, B. Montuelle, J.-C. Boisson, J.-P. Bedell, A. Ohannessian, B. Volat, and J. Gibert (2007), Influence of a stormwater sediment deposit on microbial and biogeochemical processes in infiltration porous media, *Sci. Total Environ.*, 377, 334–348, doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.01.093.
- Packman, A. I., & MacKay, J. S. (2003). Interplay of stream-subsurface exchange, clay particle deposition, and streambed evolution. *Water Resources Research*, 39(4). DOI: 10.1029/2002WR001432
- Pizzuto, J. E. (2014), Long-term storage and transport length scale of fine sediment: Analysis of a mercury release into a river, *Geophys. Res. Lett.*, 41, 5875–5882, doi:10.1002/2014GL060722.
- Ramezani, J., L. Rennebec, G. P. Closs, and C. D. Matthaei (2014), Effects of fine sediment addition and removal on stream invertebrates and fish: A reach-scale experiment, *Freshwater Biol.*, 59, 2584–2604, doi:10.1111/fwb.12456.

- Rauter A., Weigelhofer G., Waringer J. & Battin T.J. 2005. – Transport and metabolic fate of sewage particles in a recipient stream. *J. Environ. Qual.*, 34,1591-1599.
- Rehg, K. J., A. I. Packman, and J. Ren (2005), Effects of suspended sediment characteristics and bed sediment transport on streambed clogging, *Hydrol. Processes*, 19, 413–427, doi:10.1002/hyp.5540.
- Robinson C.T. & Jolidon C. 2005. - Leaf breakdown and the ecosystem functioning of alpine streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 2005, 24, 495-507.
- Rueda, J.; Camacho, A.; Mezquita, F.; Hernandez, R.; & Roca. J. R.; (2002). Effects of episodic and regular sewage discharges on the water chemistry and macroinvertebrate fauna of a Mediterranean stream. *Water Air Soil Pollution* 140: 425–444
- Ruggiero, A.; Solimini, A.G. & Carchini, G. (2006). Effects of a waste water treatment plant on organic matter dynamics and ecosystem functioning in a Mediterranean stream. *Research* 42: 97-107
- Stutter, M. I., S. J. Langan, and B. O. L. Demars (2007), River sediments provide a link between catchment pressures and ecological status in a mixed land use Scottish River system, *Water Res.*, 41, 2803–2815, doi:10.1016/j.watres.2007.03.006.
- Tank, J. L., Rosi-Marshall, E. J., Griffiths, N. A., Entekin, S. A., & Stephen, M. L. (2010). A review of allochthonous organic matter dynamics and metabolism in streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(1), 118–146. doi:10.1899/08-170.1
- Ulseth A.J. & Hershey A.E. 2005. - Natural abundances of stable isotopes trace anthropogenic N and C in an urban stream. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 24, 270-289.
- Walters, E., M. Graml, C. Behle, E. Müller, and H. Horn (2014), Influence of particle association and suspended solids on UV Inactivation of fecal indicator bacteria in an urban river, *Water Air Soil Pollut.*, 225, 1822, doi:10.1007/s11270-013-1822-8.
- Webster J.R., Golladay S.W. Benfield E.F., D'Angelo D.J. & Peters G.T. 1990. - Effects of forest disturbance on particulate organic matter budgets of small streams. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 9, 120-140.
- Webster J.R., Tank J.L., Wallace J.B., Meyer J.L., Eggert S.L., Ehrman T.P., Ward B.R., Bennett B.L., Wagner P.F. & McTammany M.E. 2000. - Effects of litter exclusion and wood removal on phosphorus and nitrogen retention in a forest stream. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 27, 1337-1340.
- Zheng, L. P & Paul, M.J. n.d. *Effects Of Eutrophication on Stream Ecosystems*. Tetra Tech, Inc.

**Sitios web de consulta:**

([www.climate-data.org](http://www.climate-data.org), 1982 hasta 2012

[www.climate-data.org](http://www.climate-data.org), desde 1982 hasta 2012

[www.smpalautordera.cat](http://www.smpalautordera.cat), 2007

[www.gencat.cat](http://www.gencat.cat), 2007