Universidad Nacional del Sur

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas

BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN LA ESPECIE CLAVE *BRACHIDONTES RODRIGUEZII* DEL ESTUARIO DE BAHIA BLANCA Y SU POTENCIAL USO COMO BIOMONITOR

Andrea Paola Schechtel

Directora: Dra. Buzzi Natalia Sol

Universidad Nacional del Sur

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas

BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN LA ESPECIE CLAVE *BRACHIDONTES RODRIGUEZII* DEL ESTUARIO DE BAHIA BLANCA Y SU POTENCIAL USO COMO BIOMONITOR

---------- ----------

Alumna
Andrea Paola Schechtel

Directora
Dra. Natalia Sol Buzzi

Febrero 2023

RESUMEN

La presente tesina comprende el estudio de la concentración de metales pesados en el molusco bivalvo *Brachidontes rodriguezii* (d'Orbigny, 1842), vulgarmente conocido como mejillín, recolectado en el estuario de Bahía Blanca (EBB). La misma, tiene como objetivo, evaluar el posible rol del mejillín *B. rodriguezii* como biomonitor de contaminación por metales pesados (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) en el EBB y determinar la concentración y distribución espacial de dichos metales en los mejillines y en los sedimentos finos del estuario.

El mejillín *B. rodriguezii*, pertenece a la familia Myltilidae es nativo de América del Sur, entre las costas de Argentina y Uruguay, y domina los sustratos intermareales duros de la costa bonaerense. Es una especie, que cumple con las características más importantes que permiten su uso como organismos centinela, de hábito filtrador, sésil y se encuentra ampliamente distribuida en el EBB, adheridos a las rocas o a las columnas de los muelles, lo que facilita su muestreo y obtención.

En noviembre 2014 se recolectaron mejillines y sedimentos de cuatro sitios del EBB: Villarino Viejo, Puerto Cuatreros, zona de la Termoeléctrica "Luis Piedra Buena" y Puerto Rosales; lugares elegidos por su localización dentro del EBB y por sus diferencias respecto al impacto antrópico, asociado a descargas de efluentes industriales o urbanos no tratados, desechos agrícolas y transporte marítimo.

También, se midieron los parámetros físico-químicos del agua superficial (pH, T°, salinidad, y oxígeno disuelto), con una sonda multisensor HORIBA U-10.

Se procedió a la cuantificación de los metales pesados como el Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Mn, Cr y Fe, en tejido blando seco del mejillín y en los sedimentos finos mediante ICP-OES (DV 2100, Perkin Elmer).

Finalmente, se observó una variabilidad espacial en la bioacumulación de metales pesados dentro del estuario, tendiendo a aumentar desde la zona más externa estudiada (Puerto Rosales) hacia la más interna (Villarino Viejo). Los niveles de metales pesados en el tejido del mejillín mostraron un patrón diferente al detectado en la fracción fina de sedimentos. Las concentraciones medias de metales en los sedimentos finos mostraron poca variabilidad entre los diferentes sitios de muestreo.

Por otro lado, los eventos meteorológicos sufridos durante el año de estudio (2014), como fueron las elevadas precipitaciones podrían, sumado a la sequía registrada el año anterior, haber tenido gran relevancia en los resultados finales de las concentraciones de metales pesados en el mejillín *B. rodriguezii* y en los sedimentos finos.

Por lo tanto, podemos concluir que, si bien algunos metales pesados afectan el estado sanitario de *B. rodriguezii*, para afirmar su utilización como biomonitor, se deberían analizar las concentraciones de estos contaminantes en agua y en el material particulado en suspensión ya que el patrón de distribución del contenido de los metales en los sedimentos resultó ser distinto al detectado en los mejillines.

A mi hija Ambar, a mis padres y hermanos

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Natalia Sol Buzzi, por darme la posibilidad de realizar mi trabajo de Licenciatura, por guiarme en cada paso, transmitirme sus conocimientos, creer en mi gran esfuerzo, apoyarme constantemente, siempre con una gran predisposición y dedicación.

Al Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET/UNS) y al Laboratorio de Química Marina por brindarme las instalaciones y el equipamiento necesario para el procesamiento y digestiones de las muestras durante la realización de la presente tesina.

Al personal del mencionado Instituto por su buena predisposición, guía y colaboración.

A Spetter *Comunicación personal* y a la Dra. Natalia Sol Buzzi por el préstamo de algunos dados físico-químicos no obtenidos durante la toma de muestras de esta tesina.

Al Dr. Pablo Rafael Martin, docente consejero, por su respaldo y apoyo en las instancias finales.

A los directivos del departamento BByF por el gran acompañamiento brindado durante la última etapa.

A mi hija Ambar, por acompañarme y apoyarme de manera incondicional y con mucho amor, a pesar de su corta edad.

A mis padres y hermanos, que siempre estuvieron ahí para sostenerme y alentarme a seguir adelante, con plena confianza en cada uno de mis logros.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....7
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....10
Área de estudio..... 10
Organismo de estudio.....12
Trabajo de campo.....13
- Sitios de muestreos..... 13
- Recolección de mejillines (*Brachidontes rodriguezii*).....14
- Obtención de sedimentos superficiales..... 14
- Medición de los parámetros físico-químicos del agua superficial.....14

Trabajo de laboratorio.....15
- Procesamiento de los mejillines 15
- Peso, longitud y humedad.....15
- Índice de Condición.....15
- Procesamiento de las muestras de sedimento..... 15
- Determinación de metales en sedimentos y tejidos: Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Mn, Cr, Fe 16
- Límites de detección del método (LDM)..... 16
- Acondicionamiento del material de muestreo y laboratorio.....16
- Análisis Estadístico 16

III. RESULTADOS..... 18
Variables físico-químicas..... 18
Mejillín Brachidontes rodriguezii..... 18
- Datos Biométricos 18
- Índice de Condición..... 19
- Metales pesados..... 20

Sedimentos.....23
- Metales pesados 23

III. DISCUSIÓN ..... .27
Variables físico-químicas.....27
Mejillín Brachidontes rodriguezii.....28
- Índice de condición..... 28
- Metales pesados..... 28

Sedimentos..... 31
- Metales pesados..... 31

Mejillín vs sedimentos..... 33
IV. CONCLUSIONES FINALES..... 33
V. BIBLIOGRAFÍA..... 35

I. INTRODUCIÓN

Los estuarios se definen como masas de agua que conectan la tierra y el océano y se extienden desde condiciones totalmente marinas hasta el límite efectivo de la influencia de las mareas, y donde el agua de mar se diluye por la entrada de agua dulce (Hobbie, 2000). Sirven de zonas de cría para varias especies y proporcionan hábitat a una gran diversidad de organismos durante todo o parte de su ciclo de vida. Sin embargo, los estuarios también se han utilizado para la dilución y eliminación de residuos en todo el mundo (Kennish, 1991; Spencer et al. 2006), lo que contribuye a su deterioro y degradación.

Los estuarios han sido reconocidos como dinámicos y complejos dentro de los ecosistemas marinos y se encuentran entre los ecosistemas más productivos del mundo (Gallegos & Neale, 2015). Por lo que, los problemas de contaminación generados por actividades antrópicas son especialmente importantes, resultando estos en el destino final de los tóxicos involucrados. El estuario de Bahía Blanca (EBB) no es la excepción, ya que las actividades antrópicas son muy importantes debido al desarrollo de diversas actividades industriales y portuarias, además de los asentamientos urbanos que descargan sus desechos en la zona interna del mismo. Por este motivo, desde el año 1978 se han realizado numerosos estudios sobre los niveles de distintos contaminantes en diferentes matrices (Marcovecchio 1994; Fernández-Severini et al. 2009; Marcovecchio et al. 2004; Truchet et al. 2020). Debido a su naturaleza no biodegradable y a su persistencia, los metales pesados merecen especial atención, ya que tienen un alto potencial para acumularse en los sedimentos y para bioacumularse en la biota, siendo biomagnificados a través de la red trófica (Censi et al. 2006; Nadal et al. 2008). Cuando los metales se encuentran biodisponibles por encima de determinadas concentraciones, sean esenciales o no, pueden producir efectos adversos en los organismos (Rainbow et al. 1999). En cuanto a la biota marina, los moluscos bivalvos están particularmente expuestos a la contaminación por metales pesados; pueden absorber contaminantes de sedimentos, material particulado en suspensión, columna de agua, y también en alimentos (Laffon et al. 2006).

En la actualidad, en los programas de monitoreo de contaminantes en ambientes acuáticos, además de medir los niveles del contaminante presente en el ambiente (agua, sedimentos y/o material particulado en suspensión), se realizan mediciones en organismos acuáticos claves del sistema. Estas mediciones, reflejan la situación del sistema de manera integrada, brindando predicciones sobre los niveles y efectos que estos contaminantes pueden generar sobre los organismos acuáticos (Anacleto et al. 2015). Los biomonitores son organismos que acumulan contaminantes en proporción directa a la biodisponibilidad ambiental, y las concentraciones corporales acumuladas son medidas integradas en el tiempo que reflejan la exposición del biomonitor a todas las fuentes de especies químicas biodisponibles del contaminante a lo largo del tiempo previo al estudio en el lugar determinado (Phillips & Rainbow, 1993; Rainbow, 1995). Los biomonitores, por lo tanto, permiten obtener medidas comparativas de la contaminación por metales en los ambientes acuáticos, y de esta forma realizar evaluaciones de la variación espacial y/o temporal en la biodisponibilidad de metales pesados (Phillips & Rainbow, 1993; Fialkowski et al. 2003a, b; Rainbow et al. 2004).

A nivel mundial los moluscos bivalvos han sido ampliamente utilizados como especies centinelas y/o biomonitores para la vigilancia en las zonas costeras, y en especial algunas

especies de mejillones como *Mytilus edilus, Mytilus galloprovincialis, Perna perna,* así como algunas especies de ostras *(Crassostrea sp., Ostrea sp*., entre otras) (Goldberg, 1975; Sericano et al. 1995; Baumard et al. 1998; Chase et al. 2001; Botello et al. 2002; Usero et al. 2005; Hamed y Emara, 2006; Francioni et al. 2007; Massara Paletto et al. 2008; Ramdine et al. 2012). El empleo de mejillones como organismos centinelas fue propuesto por Goldberg (1975) como una estrategia alternativa para entender la calidad de las aguas marinas a través del proyecto de "Vigilancia a través del Mejillón" (Mussel Watch Program), cuyo objetivo era monitorear de manera trimestral las costas de los Estados Unidos. A raíz del éxito y la confiabilidad que demostró tener esta herramienta de monitoreo, su uso se dispersó por todo el mundo (por ejemplo, las costas de México, Caribe, Centroamérica y Sudamérica (Sericano et al. 1995) y Asia (Tanabe et al. 2000), con técnicas de muestreo y análisis estandarizados. A nivel nacional, los moluscos bivalvos y en especial los mejillones, son de gran importancia en los programas de monitoreo (Giarratano & Amin, 2010; Duarte et al. 2011; Duarte et al. 2012 Giarratano et al. 2013; Buzzi et al. 2017; Buzzi & Marcovecchio 2018).

El mejillín, *Brachidontes rodriguezii* (d'Orbigny, 1846), especie bajo estudio, es un molusco bivalvo perteneciente a la familia *Mytilidae*, que cumple con las características más importantes que permiten su uso como organismos centinela (Farrington et al. 1983; Marcovecchio et al. 2014); como su hábito filtrador, vida sésil (adheridos a las rocas o a las columnas de los muelles) lo que facilita su muestreo y obtención; y su amplia distribución en el EBB. Su uso como un potencial biomonitor, permitirá proveer información integrada tanto de los contaminantes presentes en el agua como la concentración presente en los sedimentos del EBB. Además, de considerar que se trata de una especie con importancia comercial y económica, por lo que la medición y evaluación de la concentración de compuestos potencialmente tóxicos en sus tejidos es de interés para la salud pública.

Si bien existen reportes previos sobre la bioacumulación de los mismos metales pesados estudiados en la presente tesina (Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Cr, Mn y Fe) en las poblaciones nativas de mejillín *B. rodriguezii* del EBB (Buzzi et al. 2017; Buzzi & Marcovecchio 2018), el presente estudio adicionará información sobre la concentración de dichos metales en fechas posteriores a las evaluadas en los mencionados trabajos y en sitios del EBB aún no analizados; y de esta manera complementará la información ya existente para lograr una evaluación integrada en el tiempo y en el espacio.

Objetivo general

1.- Evaluar el posible rol del mejillín *Brachidontes rodriguezii* como biomonitor de contaminación por metales pesados en el estuario de Bahía Blanca.

2.- Determinar la concentración y distribución espacial de algunos metales pesados (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) en los mencionados organismos filtradores y en sedimentos del estuario de Bahía Blanca.

Objetivos particulares

1.- Analizar los cambios en la concentración de metales pesados en *B. rodriguezii* recolectados en diferentes sitios del EBB.

2.- Analizar los cambios espaciales del contenido de metales pesados en la fracción fina de los sedimentos intermareales.

3.- Caracterizar al EBB en función de distintos parámetros físico-químicos (pH, T°, salinidad, oxígeno disuelto).

4.- Evaluar la potencialidad de uso del mejillín *B. rodriguezii*, como biomonitor de metales pesados en el EBB.

Hipótesis general que sustenta estos objetivos:

El estilo de vida sésil y el hábito filtrador del mejillín Brachidontes rodriguezii permiten considerar su utilización como un potencial biomonitor de metales pesados del estuario de Bahía Blanca.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estuario de Bahía Blanca (EBB) está ubicado en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, entre los 38° 45' y 39° 25' de latitud sur y los 61° 45' y 62° 30' de latitud oeste (**Figura 1**)**.** Es un estuario de planicie costera donde los canales están separados por extensas planicies de mareas, parches de marismas e islas. La superficie total del sistema es de aproximadamente 2300 km², de los cuales 410 km² corresponden a islas, 1150 km² al sector intermareal y 740 km² a la zona submareal (Piccolo et al. 2008). Su mayor fuente de energía es la marea cuasi estacionaria que lo afecta (Perillo et al. 2007). La forma de la onda de marea lo caracteriza como un estuario hipersincrónico, donde la amplitud se incrementa paulatinamente desde la desembocadura a la cabecera (Perillo et al. 2001). El rango de amplitud de marea media varía entre 2 m (próximo a la desembocadura) y 3,3 m (en el puerto de Ingeniero White) (Piccolo & Perillo, 1990), por lo que se lo clasifica como un estuario mesomareal (Perillo, 1995). El área cubierta por agua durante la bajamar es aproximadamente 400 km², mientras que durante la pleamar la superficie cubierta es tres veces superior (~1300 km²) (Perillo & Piccolo, 1991).

Desde el punto de vista geomorfológico posee una configuración en triángulo, con importantes canales orientados en dirección noroeste-sureste, entre los cuales se destaca el Canal Principal de Navegación (Cuadrado et al. 2004). Está dividido en tres sectores: externo, medio e interno; este último limitado hacia el oeste por el continente y una línea imaginaria desde Puerto Belgrano hasta el medio de la península Verde (Piccolo & Perillo, 1990; Cuadrado et al. 2004). En cuanto a la distribución granulométrica, los sedimentos del estuario, pueden ser clasificados como limosos en la cabecera y predominantemente arenosos en la boca del mismo, con variaciones limo-arcillosos a arcillo-limosos entre ambas zonas.

Respecto a las variables físico-químicas que caracterizan al estuario, la salinidad media presenta un crecimiento exponencial desde la cabecera hasta la parte media del estuario (Piccolo & Perillo, 1990; Perillo et al. 2007). En la zona interna es donde se observa la mayor variabilidad a lo largo del año, con valores que oscilan entre 17,9 y 41,3 y en verano generalmente se convierte en "hipersalino" (Freije et al. 2008) producto del escaso aporte de agua dulce, de la alta tasa de evaporación y de los patrones de circulación restringida que caracterizan a esa zona (Piccolo & Perillo, 1990, Freije et al. 2008). Asimismo, entre la cabecera y Puerto Cuatreros la tendencia es de mezcla parcial durante las fuertes descargas del río Sauce Chico, mientras que durante los estiajes es seccionalmente homogéneo (Freije et al. 2008). A su vez, el estuario se caracteriza por una elevada turbidez producto de la acción conjunta de las corrientes de marea y los vientos (Perillo et al. 2007). Los afluentes principales de agua dulce son el río Sauce Chico, que se ubica en la cabecera del estuario, y el arroyo Napostá Grande que desemboca a 1 Km de Ingeniero White (Piccolo et al. 2008). Existen otros tributarios menores (Arroyo Saladillo de García, Arroyo Maldonado, Arroyo Galván), pero sus aportes son intermitentes y sólo se vuelven significativos en periodos de alta precipitación local (Piccolo & Perillo, 1990).

Finalmente, el estuario se caracteriza por un clima seco y templado, con una temperatura promedio que oscila los 15°C (Piccolo, 2008), caracterizado por una marcada

estacionalidad con bajos y variables niveles de precipitación anual que se concentran en primavera y otoño. La zona se caracteriza por fuertes vientos, principalmente del sector noroeste y norte, los cuales influyen en forma directa sobre la altura y el oleaje de las mareas (Capelli de Steffens & Campo de Ferreras, 2004). La temperatura del agua es un parámetro estable, oscilando estacionalmente entre 5,1 y 26,4°C (Freije et al. 2008). Los valores de pH presentan un patrón de distribución anual homogéneo y con un valor promedio de 8,2 (Botté, 2005).

En la costa norte del estuario se encuentran los asentamientos urbanos de Gral. Daniel Cerri, Ingeniero White, Punta Alta y Bahía Blanca. También se ubican importantes industrias petroquímicas entre las cuales se encuentran refinerías, planta productora de cloro, soda cáustica y monómeros vinílicos; planta fraccionadora de etano, gases licuados de petróleo y gasolina; y planta de aire comprimido (nitrógeno, hidrógeno y oxígeno), una planta procesadora de girasol y soja y otra productora de malta. Además de la planta productora de amoníaco y urea granulada más grande de Sudamérica, con una producción de 1.200.000 ton/año. Todas ellas descargan sus efluentes en el estuario, por lo cual se ha estimado que ingresan alrededor de 100 m^3 /día de efluentes sin ningún tipo de tratamiento (Piccolo & Perillo, 1990; Perillo et al. 2001). Como consecuencia de la intensa actividad antrópica el estuario recibe el volcado constante y creciente de efluentes urbanos crudos y/o parcialmente tratados de los asentamientos aledaños, así como los efluentes de las industrias citadas anteriormente. En esta zona también se encuentra el único sistema portuario de aguas profundas de Argentina, que abarca 25 km de extensión conformado por los puertos: Galván, Ing. White, Rosales y la Base Naval Pto. Belgrano. Este sistema portuario, ofrece una salida directa al Océano Atlántico, razón por la cual es intensamente navegado por embarcaciones pesqueras, buques regasificadores, buques de carga y de transporte de combustibles y cereales, lo cual requiere que el Canal Principal de Navegación sea sometido a dragados periódicos, incidiendo en la resuspensión, transporte y redistribución de sedimentos, así como de las sustancias químicas que contienen (entre ellas, las potencialmente tóxicas). Las principales fuentes de contaminación que llegan directa o indirectamente a este sistema provienen de los asentamientos urbanos y de las industrias mencionadas anteriormente, así como también de otras de menor envergadura (Marcovecchio, 2000). Razón por la cual, el EBB resulta un ambiente adecuado para llevar a cabo estudios de contaminación.

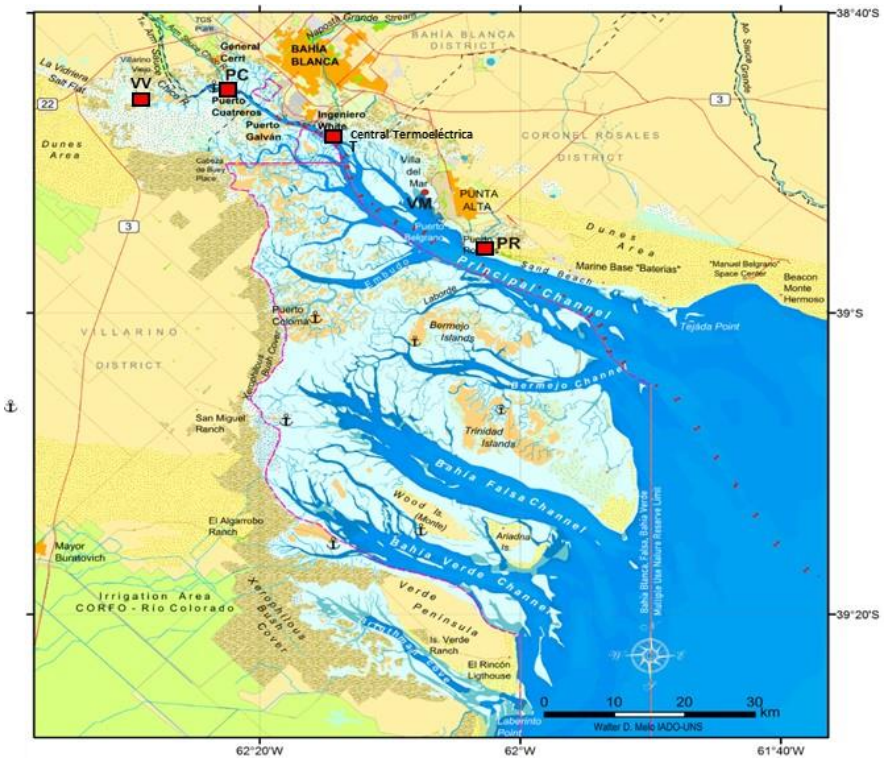

Figura 1: Mapa del área de estudio con la ubicación de las estaciones de muestreo en la zona interna y media del estuario de Bahía Blanca: Villarino Viejo (VV), Puerto Cuatreros (PC), zona de la Termoeléctrica (T) y Puerto Rosales (PR).

Organismo de estudio

El mejillín, *Brachidontes rodriguezii* (d'Orbigny, 1842) **(Figura 2),** es un molusco bivalvo perteneciente a la familia Mytilidae. Nativo de América del Sur, que habita las costas de Argentina y Uruguay; y es la especie dominante sobre los sustratos intermareales duros de la costa bonaerense (Adami et al. 2004). Externamente, se caracteriza por presentar valvas pequeñas, umbones subterminales, redondeados, dentículos por detrás del ligamento y charnela con cinco o seis dentículos pequeños (Ríos, 1985; Adami et al. 2013). El periostraco es de color marrón y la parte externa de la valva es marrón violáceo, con finas crestas longitudinales cruzadas por estrías concéntricas de crecimiento (Forcelli & Narosky, 2015) y la parte interna de la valva presenta un aspecto nacarado en la parte posterior y blanquecina, en la parte anterior. Posee una gran plasticidad fenotípica, con tallas máximas que varían entre 15 y 30 mm en poblaciones ubicadas en el intermareal superior (Vallarino, 2002; Torroglosa, 2015) y pueden llegar hasta 55 mm en poblaciones que se desarrollan en el intermareal inferior (Penchaszadeh, 1973) y hasta 65 mm en poblaciones submareales (Bastida, comunicación personal). Además, se caracteriza por ser una especie filtradora que se alimenta de algas, particularmente de diatomeas, y detritos orgánicos (Penchaszadeh, 2004), y tiene la capacidad de acumular y tolerar altas concentraciones de diferentes contaminantes (Livingstone, 1991; Magi et al. 2008; Tanabe et al. 2000). También, presenta un estilo de vida sésil y se encuentra ampliamente distribuidos en la zona de estudio. Los adultos se adhieren al sustrato por medio de los filamentos proteicos

producidos por la glándula del biso que está ubicada en la base del pie (Penchaszadeh, 1973). La movilidad del pie le permite realizar pequeños desplazamientos utilizando los filamentos bisales como punto de apoyo. Se han demostrado diversos tipos de movimientos en mitílidos, incluso a través de paredes verticales (Widdows et al. 2002; Hutchison et al. 2016). La adhesión de los organismos al sustrato, a través del biso, genera una matriz orgánica que une a los mitílidos entre sí y al sustrato, reteniendo en su interior sedimentos de variada granulometría y proveyendo refugio a organismos frente a la depredación y a la rigurosidad del ambiente físico (Seed, 1976; Suchanek, 1985), por lo cual los mitílidos son considerados bioingenieros ecosistémicos (Commito & Rusignuolo, 2000; Borthagaray & Carranza, 2007; Commito et al. 2014). Superada la resistencia de los filamentos, los mejillines se desprenden del sustrato y pueden ser dispersados por el oleaje, pero pueden volver a adherirse si permanecen en un hábitat apto para la supervivencia debido a la rápida producción de nuevos filamentos.

Figura 2: Fotografías de *Brachidontes rodriguezii* (d'Orbigny, 1842) tomadas de https://www.molluscabase.org y https://www.argentinat.org.

Trabajo de campo

Para el desarrollo del presente trabajo de investigación realizado en noviembre de 2014, se tomaron muestreas biológicas en cuatro sitios del estuario de Bahía Blanca (EBB). Los mismos se realizaron a bordo de la lancha de investigación oceanográfica IADO IV y por la costa. Los sitios seleccionados, desde la zona más interna hacia la zona más externa, fueron (**figura 1**):

Villarino Viejo (VV): sitio más interno del EBB y con menor impacto antrópico. Recibe influencia de agua dulce proveniente del Rio Sauce Chico y del arroyo Saladillo de García, los cuales atraviesan numerosos campos en los cuales el uso del suelo se vincula con la ganadería bovina y con áreas destinadas a la horticultura, lo que conlleva la aplicación de agroquímicos como herbicidas, fertilizantes, pesticidas y antiparasitarios que son depositados en los cursos de agua dulce que luego desembocan en el estuario.

Puerto Cuatreros (PC): ubicado en la zona interna del estuario, en cercanías de la ciudad de General Daniel Cerri, y a 15 km de la ciudad de Bahía Blanca. Funcionó como un pequeño puerto hasta 1962 y actualmente sólo se desarrollan actividades recreativas y de pesca artesanal. Los principales impactos del área son por los aportes de efluentes sin tratar de la planta "Tercera Cuenca", de la planta TGS en General Daniel Cerri (que aportan aguas residuales de los laboratorios provenientes de la planta transportadora de gas) y del arroyo Sauce Chico.

Zona de la termoeléctrica (T): este punto de muestreo de la zona interna, se ubica aledaño a la Central Termoeléctrica Luis Piedrabuena, en la zona de Ingeniero White, zona marítima de grandes terminales comerciales y de cargas generales. Dicha central suministra energía eléctrica a partir de calderas que funcionan indistintamente con gas natural o por la combustión de fuel oil.

Puerto Rosales (PR): ubicado en el sector más externo de la zona media del estuario enfrentado al canal "El Embudo", en la localidad costera de Punta Alta (distrito de General Rosales con ~ 60.000 habitantes). Se caracteriza por el transporte marítimo y la eutrofización provocada por la descarga cloacal sin tratar de dicha ciudad. Es un puerto pesquero artesanal de pequeña escala, comercial, y también puerto naval.

En cada sitio de muestro se realizaron las siguientes tareas:

Recolección de mejillines (Brachidontes rodriguezii).

Las muestras de mejillines fueron obtenidas manualmente de las columnas de los muelles y de rocas en aguas superficiales (0–1 m), en condiciones de bajamar. En cada sitio se recolectaron entre 60 y 70 organismos de entre 25 y 50 mm de longitud de valva. Estos se mantuvieron refrigerados hasta su arribo al instituto. Posteriormente fueron almacenadas a -20ºC hasta su procesamiento.

Obtención de sedimentos superficiales.

De cada sitio se obtuvieron manualmente 3 muestras de sedimentos superficiales utilizando un cucharón de acero inoxidable. En la zona de T y PC los sedimentos se extrajeron aproximadamente a 5 metros de profundidad, en la zona submareal. En el caso de VV y PR se extrajeron directamente del intermareal. Las muestras fueron guardadas en bolsas plásticas, refrigeradas a bordo, y posteriormente almacenadas a -4ºC hasta su procesamiento.

Medición de los parámetros físico-químicos del agua superficial.

En cada estación de muestreo se midieron los parámetros físico-químicos del agua (Temperatura, conductividad, pH y oxígeno disuelto) con una sonda multisensor HORIBA U-10. La salinidad fue calculada en función de la conductividad registrada. Debido a que la sonda multisensor HORIBA U-10 utilizado, arrojo datos anómalos, los valores de OD para T y PR fueron

proporcionados por *Spetter Comunicación personal* (en bajamar) y para PC por *Buzzi, N.* (en pleamar*)*. No se registraron datos de OD para VV.

Trabajo de laboratorio

Procesamiento de los mejillines

Los mejillines, primero se agruparon al azar en 3 pooles de 20 organismos cada uno, por cada sitio de muestreo. Luego, se procedió a la limpieza de los organismos de forma manual y con agua destilada para sacar el material que se encontraba adherido a las valvas. Finalmente, se realizaron mediciones y/o determinaciones a fin de describir el estado de los organismos seleccionados para el estudio, detalladas a continuación:

- *Peso, longitud y humedad.*

Una vez limpios, se midió la longitud de las valvas (mm) de los mejillines y se procedió a la disección. Se extrajo la totalidad del tejido blando de todos los organismos de cada pool. En el caso del pool 1, se registró el peso del tejido de cada organismo en balanza analítica OHAUSS (± 0.001 g de precisión). Finalmente, los tejidos de cada pool se homogeneizaron y se almacenaron a -20ºC en cajas de Petri previamente acondicionadas y pesadas para luego ser liofilizados. La diferencia de peso obtenida entre el tejido liofilizado y el húmedo permitió calcular el % de humedad de cada pool, lo que permitió estimar luego, el peso seco de cada individuo del pool 1.

- *Índice de condición.*

Solamente se calculó el IC para el pool 1 de cada sitio. Para ello las valvas de los organismos correspondientes a este pool fueron secadas en estufa a 60 º C hasta peso constante. El IC se calculó por organismo de acuerdo a Lucas & Beninger (1985) como:

$$IC = \frac{\text{peso seco del tejido blando total}}{\text{peso seco de las valvas}} * 100$$

Procesamiento de las muestras de sedimento

Las muestras de sedimentos fueron secadas en estufa a 60 º C hasta peso constante, el material fue molido en mortero y se removieron restos de organismos como caracoles y restos de vegetación. Luego se tamizaron para obtener la fracción más fina correspondiente a <63 µm.

Determinación de metales en sedimentos y tejidos: Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Mn, Cr, Fe

Para el análisis de los metales pesados, se pesaron en tubos de ensayo por duplicado, 0,5 g de sedimentos finos secos y de tejido seco de mejillín y se procedió según el método descrito por Marcovecchio & Ferrer (2005). Este método incluye una mineralización con ácidos fuertes (HNO_3:$HClO_4$, 5:1) bajo condiciones controladas de temperatura (110 ± 5°C). Primeramente, se realiza una predigestión con 5 ml de HNO_3 durante 3 h y posteriormente se le adiciona 1 ml de $HClO_4$ y los tubos se colocan en un baño de glicerina a 110±10°C hasta completar la digestión. El extracto final de 1 mL fue trasvasado con pipeta Pasteur a un tubo de centrífuga y se agregó HNO_3 diluido al 0,7% hasta completar los 10 mL. Debemos mencionar, que se realizaron los blancos respectivos, los mismos carecen de muestra, pero se les aplicó el mismo tratamiento que a los demás tubos. Finalmente se realizó la lectura de los metales (Cd, Cu, Pb, Zn, Mn, Ni, Cr, Fe) en las muestras en ICP-OES (DV 2100, Perkin Elmer).

- *Límites de detección del método (LDM)*

El límite de detección del método (LDM) fue calculado para cada metal multiplicando la desviación estándar de 10 veces el blanco (o los blancos) de reactivo por el valor "t-Student" a un nivel de confianza del 99% (n-1° de libertad) de acuerdo al Federal Register (1984) y a la EPA (2016). Para las dos matrices (mejillines y sedimentos), el LDM empleado fue (mg L^{-1}): Cd: 0,003; Cu: 0,062; Pb: 0,094; Zn: 0,1063; Mn: 0,045; Ni: 0,011; Cr: 0,010; Fe: 0,6139. Para los análisis estadísticos, en el caso en que las concentraciones de metales no hayan superado el LDM, fueron remplazados por la mitad de su valor (LDM/2).

Acondicionamiento del material de muestreo y laboratorio

Todo el material utilizado durante la obtención y manipulación de muestras, como en la determinación de metales pesados fue acondicionado siguiendo la normativa internacional de APHA (1998). Este incluye el lavado del material con detergente no iónico, 3 enjuagues con agua corriente, 3 enjuagues con agua destilada y su inmersión en baños de HNO_3 al 5% por 24 h. Los elementos de metal (pinzas, bisturíes, tijeras) fueron enjuagados con HNO3 0,7%. Luego todo el material es enjuagado nuevamente 3 veces con agua destilada.

Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se trabajó con los programas Excel 2010 y SPSS 11.0. Se realizó el test paramétrico de análisis de la varianza (ANOVA) de un factor con distribución *F* (I-1; N-1) gl, con el objetivo de evaluar si existen diferencias en la concentración de metales pesados en los mejillines y en los sedimentos de los distintos sitios, luego de verificar los supuestos de normalidad y homocedasticidad mediante las pruebas de Levene (1960); Shapiro & Wilk (1965) y Conover et al. (1981). En el caso de haber detectado diferencias estadísticas significativas entre los sitios de muestreo se realizó la prueba de Bonferroni de comparaciones múltiples. En el caso de no cumplirse los supuestos para el ANOVA, los datos fueron contrastados a través del test no

paramétrico de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) de comparación de medianas, en el caso de haber detectado diferencias estadísticas significativas entre los sitios de muestreo se realizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni. Esta corrección se basa en la división del nivel de significancia (p= 0,05) por el número de comparaciones de pares (seis comparaciones espaciales).

III. RESULTADOS

Los siguientes resultados corresponden a los datos obtenidos en cuatro sitios de muestreo del estuario de Bahía Blanca: Villarino Viejo (VV), Puerto Cuatreros (PC), zona de la Termoeléctrica (T) y Puerto Rosales (PR). Primero, se detallan los valores de las variables físico-químicas: temperatura, salinidad, conductividad, pH y concentración de oxígeno disuelto (OD). Luego se muestran los datos biométricos y el Índice de condición (CI) del mejillín *B. rodriguezii*. Finalizando, la descripción de los resultados del análisis de patrones de distribución espacial de las concentraciones de los metales pesados: Cd, Cu, Pb, Zn, Mn, Ni, Cr y Fe en el tejido blando del mejillín *Brachidontes rodriguezii* y en los sedimentos finos.

Variables físico-químicas

En la **Tabla 1** se muestran los valores registrados de las variables físico-químicas nombradas anteriormente, en los diferentes lugares de muestreo.

Tabla 1: Variables físico-químicas registradas en cada uno de los sitios de muestreos (VV: Villarino Viejo, PC: Puerto Cuatreros, T: zona de la Termoeléctrica y PR: Puerto Rosales).

	Temperatura (°C)	*Salinidad*	*pH*	*Oxígeno disuelto (mg/l)*
VV	*20,8*	*18,82*	*7,86*	-
PC	*19,1*	*20,54*	*7,7*	*6,7*
T	*18,5*	*28,26*	*7,83*	*8,7*
PR	*17,6*	*31,45*	*7,89*	*8,3*

Los datos registrados muestran poca variación entre los diferentes sitios. Se observa una menor temperatura (17,6 °C) y mayor salinidad (31,45) en PR, sitio más externo estudiado y mayor temperatura (20,8 °C) y menor salinidad (18,82 %) en VV, sitio localizado en la zona más interna del EBB. El pH, se mantuvo prácticamente constante en todos los sitios. El OD registrado para la T y PR se mantuvo constante, diferenciándose con PC.

Mejillín *Brachidontes rodriguezii*

- *Datos Biométricos*

En la **Tabla 2**, se muestran las medidas del mejillín *B. rodriguezii* en longitud de valva, peso húmedo, peso seco y porcentaje de humedad, en cada uno de los sitios de muestreo.

Tabla 2: Medidas de longitud de valvas (Long;mm) considerando la totalidad de los mejillines *B. rodriguezii*, presentes en tres pooles de 20 individuos cada uno para cada estación; peso húmedo (g), peso seco (g) y porcentaje de humedad correspondientes al promedio y desvío de los pooles para cada estación.

		Long (mm)	*pi húmedo (g)*	*pi seco (g)*	*% humedad*
VV	*MIn*	23,52	24,41 ± 1,86	4,45 ± 0,35	81,79 ± 0,28
	Max	54,33			
	x̄	36,96 ± 6,30			
PC	*MIn*	28,38	29,15 ± 1,18	5,28 ± 0,14	81,89 ± 0,54
	Max	49,8			
	x̄	40,47 ± 4,67			
T	*MIn*	24,57	25,61 ± 0,98	5,37 ± 0,57	79,05 ± 1,42
	Max	47,5			
	x̄	37,17 ± 5,37			
PR	MIn	23,84	16,34 ± 1,27	3,18 ± 0,32	80,55 ± 0,47
	Max	40,09			
	x̄	31,06 ± 3,89			

A partir de los resultados obtenidos se puede evidenciar cierta variación entre las estaciones respecto a la longitud de las valvas, peso húmedo y peso seco, observándose en PR los menores valores obtenidos. Por su parte, los mayores valores medidos se dieron en Puerto Cuatreros, registrando una longitud de 40,47 ± 4,67 mm, pi húmedo de 29,15 ± 1,18 g, % de humedad de 81,89 ± 0,54 % y un pi seco de 5,28 ± 0,14 g mínimamente por debajo del registrado para la T, quien presenta el menor % de humedad (79,05 ± 1,42 %). Teniendo en cuenta, únicamente, la variación entre el máximo y el mínimo en longitud de valvas se observó una mayor variación de tamaño dentro de los pooles extraídos en VV (mín. = 23,52 mm; máx. = 54,33 mm) y una menor variación en PR (mín. = 23,84 mm; máx. = 40,09 mm).

- *Índice de Condición (IC)*

En la **Tabla 3** se muestra el Índice de Condición (IC) del promedio del pool 1, previamente calculado en cada individuo en particular.

Tabla 3: Índice de Condición en promedio y desvío estándar, del pool 1 de cada sitio de muestreo.

	Índice de Condición (IC)
VV	9 ± 2,25
PC	9,42 ± 2,27
T	13,83 ± 3,92
PR	12,51 ± 2,71

Los resultados demuestran que el IC en los organismos tendió a ser menor en VV y PC y mayor en T y PR.

- *Metales pesados*

En la **Figura 3** se grafica el promedio y error estándar de las concentraciones en ug/g p.s de cada metal pesado (Cd, Cu, Zn, Mn, Ni, Cr y Fe) en el mejillín *B. rodriguezii*, para los cuatro sitios de muestreo. El Pb, por su parte, se presentará de manera descriptiva por encontrarse en todos los sitios por debajo del LDM.

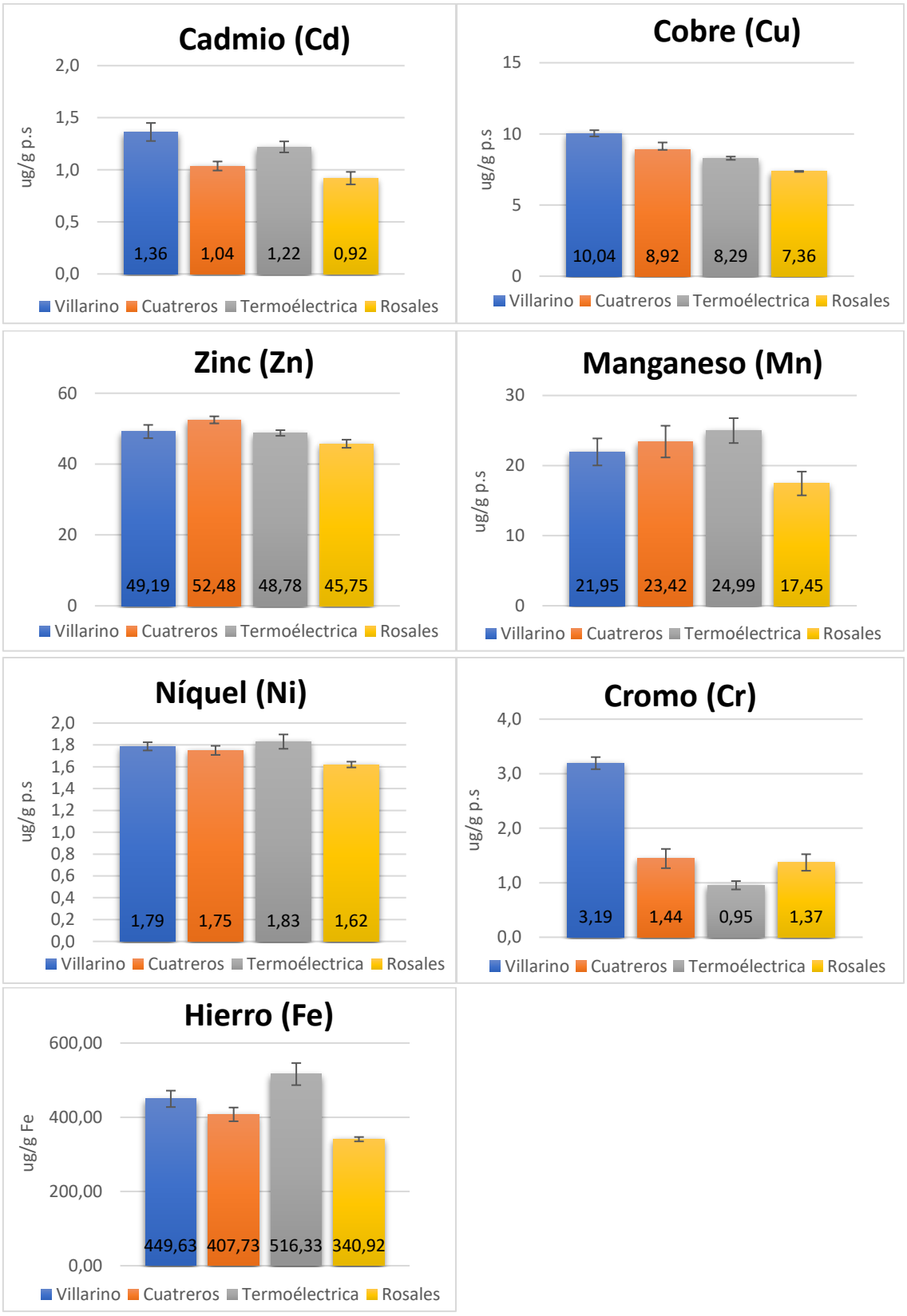

Figura 3: Concentraciones (ug/g p.s) de los metales Cd, Cu, Zn, Mn, Ni, Cr y Fe presentes en los mejillines *B. rodriguezii* en cada sitio de muestreo (valor medio ± ES).

De acuerdo a la información extraída de los gráficos de cada uno de los metales en base a los diferentes sitios de muestreo, se puede observar el siguiente orden de metales, en VV: Fe > Zn > Mn > Cu > Cr > Ni > Cd > Pb; en la T: Fe > Zn > Mn > Cu > Ni> Cd > Cr > Pb; y en PC y PR: Fe > Zn > Mn > Cu > Ni > Cr > Cd > Pb. Variando principalmente entre los sitios, el contenido de Cr, Ni y Cd. Obteniéndose mayor contenido de Fe y menor contenido de Pb. El Cr en VV se destacó por su valor mucho más alto que en el resto de los sitios.

En la **Tabla 4** se resumen los niveles de significación del Análisis de Varianza (ANOVA). Se resaltó en negrita los metales que mostraron diferencias entre los sitios: Cd, Zn, Cr y Fe. Los metales Mn y el Ni, no rechazaron la Ho de igualdad de medias.

Tabla 4: Niveles de significación del ANOVA simple balanceado para la concentración media de metales en tejido blando del mejillín *B. rodriguezii.*

	Cd	*Zn*	*Mn*	*Ni*	*Cr*	*Fe*
Nivel de significación	**< < 0,01**	**< 0,05**	> 10	> 0,05	**< < 0,01**	**< < 0,01**

En la **Tabla 5** se resumen los resultados del test de comparaciones múltiples de Bonferroni realizado a los metales pesados que presentaron diferencias estadísticas (Cd, Zn, Cr y Fe) en el tejido blando del mejillín *B. rodriguezii*. Los sitios que comparten letras no presentan diferencias estadísticas significativas en la concentración media de metales pesados, mientras que los que tienen distinta letra, presentan diferencias estadísticas significativas.

Tabla 5: Resultados del test de Bonferroni para tejido blando del mejillín *B. rodriguezii.*

	Cd	*Zn*	*Cr*	*Fe*
VV	b	ab	b	bc
PC	a	b	a	ab
T	ab	ab	a	c
PR	a	a	a	a

A partir de los gráficos (**Figura 3)** y de la tabla de comparaciones múltiples (**Tabla 5**) se observa que el contenido de metales en tejido blando del mejillín de VV se diferencia de PC y PR respecto del metal Cd, presentando mayor valor en VV (1,36 µg/g p.s) y menores valores en PC (1,04 µg/g p.s) y PR (0,92 µg/g p.s), respectivamente. VV, también se diferencia de la totalidad de los sitios respecto del metal Cr, registrando un valor de (3,19 µg/g p.s). PC se diferencia de PR, respecto del metal Zn, presentando un mayor valor en PC (52,48 µg/g p.s) y menor en PR (45,75 µg/g p.s). Finalmente, la concentración de Fe en *B. rodriguezii* se diferenció en la T respecto de PR, presentando mayor valor en la T (516,33 µg/g p.s) y menor valor en PR (340,92 µg/g p.s).

En el caso del metal Cu, los datos fueron contrastados a través del test no paramétrico de Kruskal-Wallis. El resultado dio estadísticamente significativo (p=0,03) para la diferencia de

medianas, por lo que luego se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni para determinar entre que lugares existen diferencias significativas, detectando las siguientes diferencias:

Tabla 6: Resultados de la prueba U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni para el metal Cu del tejido blando del mejillín *B. rodriguezii.*

Prueba U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni	Significancia
VV vs PC	-
VV vs T	*
VV vs PR	*
PC vs T	-
PC vs PR	*
T vs PR	*

*$p \leq 0{,}008$ diferencias significativas (nivel de significancia 0,05/ 6 pares de comparaciones espaciales)

A partir del gráfico del Cu (**Figura 3**) y de la tabla de la Prueba U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni **(Tabla 6)**, se observa que el Cu en el tejido blando de mejillines recolectado en PR presenta diferencias significativas con todos los demás sitios, presentado una menor concentración (7,36 µg/g p.s). A la vez las concentraciones de este metal fueron menores en T (8,29 µg/g p.s), en comparación con VV (10,4 µg/g p.s) y PC (8,92 µg/g p.s), siendo ambas diferencias estadísticamente significativas.

Sedimentos

- *Metales pesados*

En la **Figura 4** se grafica el promedio y error estándar de las concentraciones en ug/g p.s de cada metal pesado (Cd, Cu, Pb, Zn, Mn, Ni, Cr y Fe) registrados en los sedimentos finos de los cuatro sitios de muestreo.

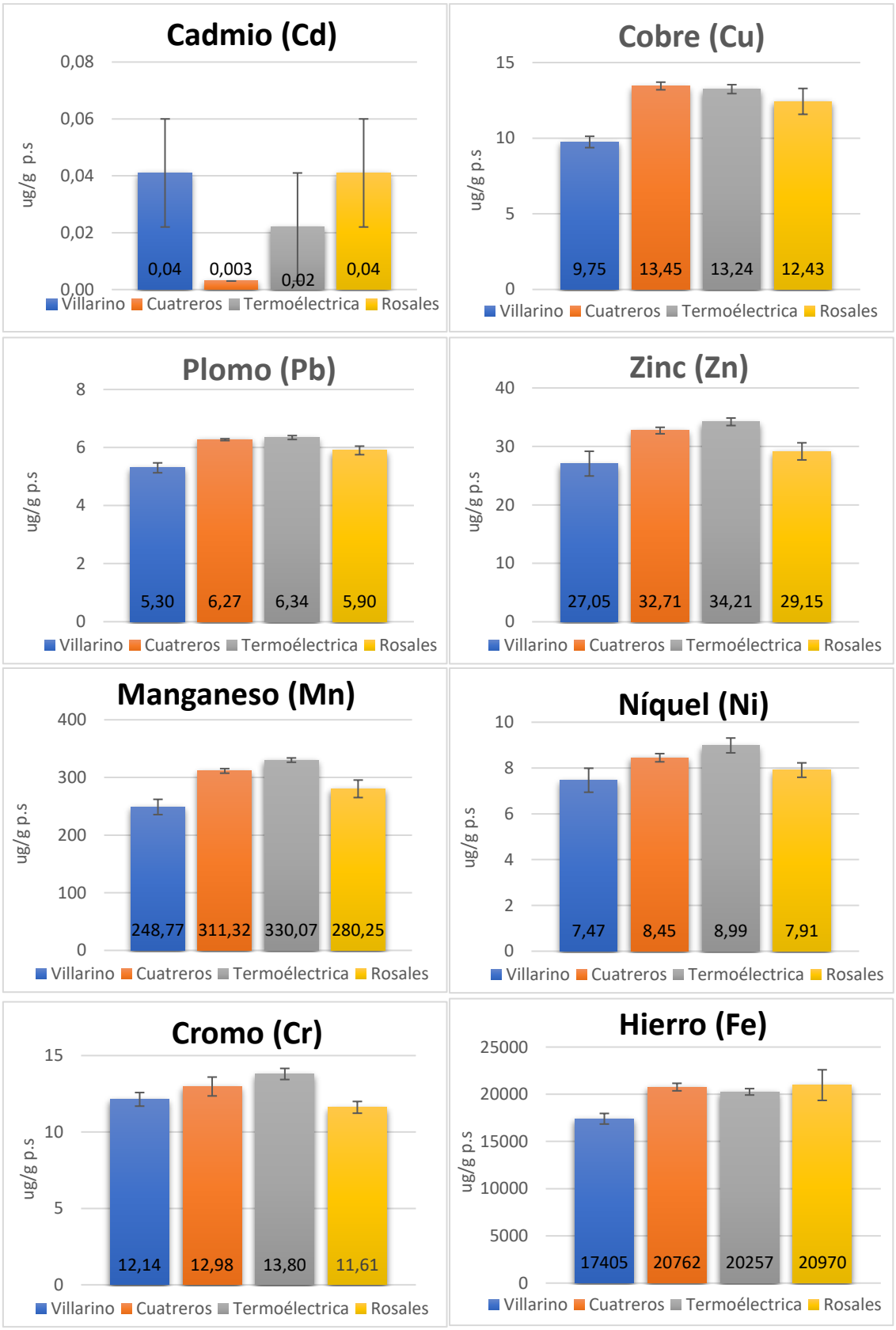

Figura 4: Concentraciones (ug/g p.s) de los metales Cd, Cu, Zn, Mn, Ni, Cr y Fe presentes en los sedimentos finos en cada sitio de muestreo (valor medio ± ES).

A partir de la información brindada por los gráficos de cada uno de los metales en sedimentos finos en los diferentes sitios de estudio, se puede observar que no existe gran variación de los mismos, registrándose el siguiente orden: En VV y la T el orden fue de Fe > Mn > Zn > **Cr** > **Cu** > Ni > Pb > Cd; y en PC y PR fue Fe > Mn > Zn > **Cu** > **Cr** > Ni > Pb > Cd; reflejando pequeñas variaciones en el contenido de Cr y Cu entre los sitios de muestreo. El metal Cd estuvo por debajo del límite de detección para PC y la T (LDM = 0,002986544 mg/l), y en ciertas ocasiones, también en las muestras de VV y PR.

En la **Tabla 7** se resumen los niveles de significación del Análisis de Varianza (ANOVA). Se resaltó en negrita los metales que mostraron diferencias entre los sitios: Cu, Pb, Zn, Mn y Cr. El Ni y el Fe, no rechazaron la Ho de igualdad de medias

Tabla 7: Niveles de significación del ANOVA simple balanceado para la concentración media de metales en sedimentos finos.

	Cu	*Pb*	*Zn*	*Mn*	*Ni*	*Cr*	*Fe*
Nivel de significación	**<< 0,01**	**<< 0,01**	**< 0,05**	**<< 0,01**	> 0,05	**< 0,05**	> 0,05

En la **Tabla 8** se resumen los resultados del test de comparaciones múltiples de Bonferroni realizado a los metales que presentaron diferencias estadísticas (Cu, Pb, Zn y Mn). Los sitios que comparten letras no presentan diferencias estadísticas significativas en la concentración media de metales pesados en sedimentos finos, mientras que los que tienen distinta letra, si presentan diferencias estadísticas significativas.

Tabla 8: Resultados del test de Bonferroni para la concentración media de metales en sedimentos finos.

	Cu	*Pb*	*Zn*	*Mn*
VV	a	a	a	a
PC	b	b	ab	b
T	b	b	b	b
PR	b	b	ab	ab

A partir de los gráficos **(Figura 4)** y de la tabla de comparaciones múltiples de metales en sedimentos finos **(Tabla 8)** se observa que existen menos diferencias significativas entre los sitios de muestreo que las observadas para tejido blando de mejillines *B. rodriguezii*. VV se diferencia del resto de los sitios respecto a la concentración de los metales Cu y Pb, presentando menor contenido de estos metales (9,75 ug/g p.s Cu; 5,30 ug/g p.s Pb). VV se diferencia con T, respecto del Zn, presentando mayor valor en la T (34,21 ug/g p.s) y menor valor en VV (27,05 ug/g p.s). VV se diferencia con PC y T respecto del Mn, presentando menor valor en VV (248,77 ug/g p.s) y mayores valores en la T (330,07 ug/g p.s) y en PC (311,32 ug/g p.s).

El test de ANOVA para el metal Cr dio significativo con una probabilidad cercana al α=0,05, pero dicho metal no se encuentra en la tabla de comparaciones múltiples de Bonferroni, ya que, al tratarse de un test muy conservador, no detecto diferencia entre los lugares de

muestreo. Por lo que, se aplicó un test más liberal, como el DMS (diferencia mínima significativa) **(Tabla 9).**

Tabla 9: Resultados del test de DMS para la concentración media del Cu en sedimentos finos.

	VV	*PC*	*T*	*PR*
Cr	a	ab	b	a

A partir de los gráficos **(Figura 4)** y test DMS (**Tabla 9),** se detectaron diferencias en T respecto a VV y PR, siendo la concentración de Cr en los sedimentos finos mayor en T (13,80 ug/g p.s) y menores en W (12,14 ug/g p.s) y PR (11,61 ug/g p.s).

Las concentraciones medias del metal Cd, no cumplieron con los supuestos para el ANOVA, motivo por el cual, los datos fueron contrastados a través del test no paramétrico de Kruskal-Wallis. El resultado dio estadísticamente no significativo para la diferencia de medianas, por lo que se aceptó la Ho, no detectándose diferencias en el contenido de Cd en los sedimentos finos de los distintos sitios de muestreo.

.

III. DISCUSIÓN

Variables físico-químicas

Las variables ambientales como la temperatura, la salinidad, el pH, la concentración de OD en la columna de agua tienen una gran influencia en la distribución y la concentración de los metales pesados en los diferentes compartimientos (agua, MPS, sedimentos y organismos vivos) (Marsden & Rainbow, 2004). Además, afectan su especiación química (Wood, 1989) y juegan un papel importante en la interacción de los metales pesados con otros contaminantes como, por ejemplo, los compuestos orgánicos persistentes, entre otros (Rovira, 1993).

Considerando los datos físico-químicos registrados, durante el muestreo observamos que los valores de temperatura decrecieron desde la zona más interna del EBB (VV) a la zona más externa (PR); los valores de pH se mostraron bastante homogéneos entre los distintos sitios de muestreo, mientras que la salinidad mostró un patrón creciente desde la cabecera (VV) hacia la zona externa del estuario (PR), coincidiendo con Brockway et al. (2006) y O'Callaghan et al. (2007) pero, sin presentar un gradiente pronunciado a lo largo de todo el estuario, como se puede observar en muchos de estos sistemas.

Las variables físico-químicas concuerdan con las registradas en estudios previos (Freije & Marcovecchio, 2007; Freije et al. 2008), indicando una relativa estabilidad del sistema. Aunque también, se observaron valores semejantes en temperatura y valores menores en salinidad y pH, que en la estación primavera del 2011/12 para VV y PC (Buzzi et al. 2017); mayor temperatura, menor salinidad y pH que los valores medios registrados para 2011-2013 por Buzzi & Marcovecchio (2018) en PC y T. En base a estas diferencias encontradas con la bibliografía descripta, podrían los datos obtenidos en el presente trabajo, estar relacionados con una posible dilución del agua estuarina provocada por un aumento en los afluentes de agua dulce de la cuenca de drenaje de los tributarios que desembocan en el EBB, causados por los eventos climáticos ocurridos en el año 2014. Según el Servicio Metrológico Nacional, a nivel país, el año 2014 después del año 2000, se consideró como el año con más precipitaciones registradas desde 1961 a la actualidad, siendo el año 2013, el séptimo año más seco. A su vez, también a nivel país, la estación otoño de 2014 se consideró como la cuarta estación más lluviosa, y particularmente, el mes de octubre, en la zona de Bahía Blanca la precipitación acumulada fue de aproximadamente entre 150 a 200 mm. Específicamente, Ferrelli (2016) registró 187,3 mm. Según, Liu et al. (2007); Couceiro et al. (2009); Souza Machado et al. (2016) una característica estuarina importante es la descarga fluvial, que afecta los procesos de mezcla, al gradiente de salinidad y a la entrada de materia orgánica disuelta, material en suspensión y fitoplancton. La entrada de agua dulce (de baja densidad) y el agua salada (de alta densidad) suelen generar una circulación estuarina, con gradientes verticales de salinidad y de agua dulce, que sale principalmente a la superficie (Kundu & Cohen, 2004). Por otra parte, el aumento de la descarga de un tributario implica una mayor entrada de material en suspensión (Couceiro et al. 2009), la posibilidad de resuspensión de partículas sedimentadas (Savenije, 2012) y una menor salinidad. puede intensificar los procesos de absorción y precipitación de elementos, dando lugar a un máximo de partículas y un mínimo de metales disueltos en la columna de agua (Sousa Machado et al., 2016).

Mejillín *Brachidontes rodriguezii*

o *Índice de condición*

Para evaluar el estado fisiológico de los mejillines, se calculó el índice de condición (IC), considerado como un indicador estandarizado del estado fisiológico de un bivalvo y que se ha utilizado para reducir la fuerte variación en los datos debido al tamaño o las diferencias en las condiciones tróficas (Buzzi et al. 2017). Además, de que bajo condiciones ambientales estresantes y/o exposición a contaminantes, la condición fisiológica de los mejillines podría verse reducida (Widdows et al. 1997; Blanco, 2002; Mauricio & Baraldi, 2003) y que la variabilidad del IC depende de la compleja interacción entre factores extrínsecos e intrínsecos, como la etapa reproductiva, la temperatura, la salinidad, la disponibilidad de alimento y la calidad de la dieta (Oliva et al. 2017).

En este estudio, al igual que en Buzzi et al. (2017) y Buzzi & Marcovecchio (2018), el IC tendió a ser menor en los sitios más internos del EBB (VV y PC). Estos autores sugieren que las altas concentraciones de Cr, Cd y Cu detectadas en los tejidos blandos de los organismos afectan su estado de salud induciendo una disminución en el IC. Por lo tanto, en base a estos estudios (Buzzi et al. 2017; Buzzi & Marcovecchio, 2018), el menor IC de *B. rodriguezii* recolectados en VV y PC, podría deberse a una mayor acumulación de alguno estos metales en comparación con los sitos más externos del estuario. En el caso específico de PC y la T, las concentraciones medias de Cu y Cd en los mejillines fueron similares entre ambos sitios (**Figura 3; Tabla 5 y 6**) pero el IC de los organismos de PC resultó menor que el registrado en la T, por lo tanto, podríamos inferir que el Cr sería el metal responsable de tal diferencia.

o *Metales pesados*

Al evaluar las muestras estadísticamente, se encontraron diferencias significativas en la concentración de los metales pesados (**Tablas 4, 5 y 6**). A partir de este análisis y en combinación con lo observado en los gráficos (F**igura 3**), se estableció que: VV se diferenció de PC y PR en el mayor contenido de metal Cd, y de la totalidad de los sitios respecto al mayor contenido del metal Cr; una explicación para el contenido de ambos metales en los mejillines *B. rodriguezii* podría asociarse a una posible tendencia de uso excesivo de productos agroquímicos, como fertilizantes fosfatados que contienen impurezas de metales pesados, entre ellos, Cr y Cd, en las zonas agropecuarias lindantes al río Sauce Chico, cuyo cause permite el ingreso permanente de agua dulce al EBB en la zona de VV. Esta Tendencia pudo agravarse por las abundantes lluvias mencionadas para el año de muestreo, arrastrando una mayor cantidad de metales pesados de los suelos por escorrentía superficial o subterránea, considerando que el año 2013 se identificó como uno de los más secos desde 1961, por lo que, los productos químicos utilizados podrían haber permanecidos en los suelos de aplicación. Según Chiodi Boudet, et al. (2022) los fertilizantes fosfatados aportan fósforo a los suelos, los cuales a su vez presentan como impurezas metales pesados tales como: Cd, Pb, Zn, Cu, Cr, Ni, así como el metaloide, arsénico (As), provenientes de la roca fosfórica a partir de la cual son producidos. En Argentina, la

información respecto a las concentraciones de metales en fertilizantes fosfatados es escasa y desactualizada, sumado a que su uso ha alcanzado valores récord en los últimos años. Según Zubillaga & Lavado (2016) la concentración de estos elementos en los fertilizantes fosfatados depende del producto final y el proceso de producción y el uso continuado, con altas dosis de estos fertilizantes enriquecen los suelos con estos elementos. A pesar de que se demostró que la concentración de Cd en los sedimentos es baja, se detectó en todas las muestras de mejillín. Estos resultados concuerdan con lo informado por Vázquez et al. (2007) en *B. rodriguezii* de la Patagonia y por Gil et al. (2006) y Apeti et al. (2009) en mejillones de diferentes zonas. Este patrón puede explicarse porque en condiciones aeróbicas, el Cd se encuentra principalmente en forma disuelta, aumentando su disponibilidad para ser incorporado por la biota (Bewers et al. 1987). De esta manera, el Cd en los organismos marinos podría ser muchas veces mayor que el nivel del metal en el ambiente circundante (Ansari et al. 2004; Apeti et al. 2009). El Cr en su estado de oxidación +3 es un elemento esencial, aunque no se conocen con exactitud sus funciones; y aunque sus concentraciones corporales están reguladas, niveles elevados en el ambiente pueden resultar tóxicos. En general los bivalvos no tienden a bioacumular este metal (Chong & Wang 2001). Las concentraciones medias detectadas en *B. rodriguezii* en PC, T y PR resultaron similares a las registradas en los mismos organismos por Buzzi & Marcovecchio (2018), no así los valores hallados en VV los cuales resultaron más elevados. Los mismos son similares a los detectados en *Mytilus galloprovincialis* del sur de Italia (Spada et al. 2013). Estos autores relacionan los altos niveles de Cr con las descargas urbanas y de pequeñas industrias, debido a que este metal es un componente importante del acero inoxidable y también se utiliza para la producción de pigmentos, conservantes de cuero y anticorrosivos (Das & Mishra, 2008) y sus principales fuentes son los desechos industriales y municipales, y vertidos de sólidos (Dahab & Al-Madfa, 1997).

En relación a los demás metales, los valores medios encontrados de Zn, fueron similares a los publicados en Buzzi & Marcovecchio (2018). En general es común detectar altos niveles de Zn y Cu en bivalvos (Szefer et al. 1997; Wong et al. 2000). Si bien, son metales esenciales y su concentración es regulada por los organismos, elevadas concentraciones ambientales pueden producir efectos adversos. En este estudio PC se diferenció de PR, respecto a un mayor contenido de Zn, por lo tanto, la fuente de Zn es probablemente diferente en cada caso. El Zn sería aportado por efluentes urbanos asociados a materia orgánica en PR, debido a las descargas de efluentes cloacales pertenecientes a la ciudad de Punta Alta; y en partículas transportadas por los aportes de agua dulce en PC, caracterizado por tener un pequeño muelle de pesca y de recreación, por ende, el contenido de Zn también se puede atribuir a la presencia generalizada de pequeñas embarcaciones de pesca artesanal, lo mismo ocurriría en PR, que sumado a embarcaciones de pescadores artesanales es un puerto comercial. En el caso del Cu, PR se diferenció de todos los demás lugares por una menor concentración, siendo mayor en VV y PC, lo cual también, podría explicarse por la utilización de agroquímicos y vertidos cloacales en la zona preferentemente de PC. Similares resultados se observaron en Buzzi et al. (2017). Según Piola et al. (2009), la presencia de Cu en el medio acuático está relacionada con embarcaciones de recreo, escorrentías urbanas o residuos industriales, factores observables en la zona interna del EBB. Por otro lado, la T se diferencia de PR respecto a un mayor contenido del metal Fe, siendo la T la zona más industrializada de este estudio, lo que concuerda con el alto contenido

de Fe presente, por ejemplo, por la presencia de estructuras de hierro inmersas en el agua y efluentes industriales, aunque también, podría estar asociado, a las descargas de efluentes domiciliarios pertenecientes a la Ciudad de Ingeniero White. Finalmente, no se encontraron diferencias estadísticas en la concentración de Mn y Ni en el tejido blando de *B. rodriguezii* de los diferentes sitios. Estos metales suelen encontrarse en los vertidos industriales y domiciliarios, que afectan a todos los lugares de muestreo a excepción de VV que, en este caso, podría explicarse por arrastres de heces y desechos de orgánicos, como de agroquímicos que llegaron al agua por escorrentía superficial o subterránea.

El Pb, siempre se encontró por del bajo del LDM. Situaciones similares se dieron en otros estudios realizados en el EBB en el tejido blando *B. rodriguezii* (Buzzi et al. 2017; Buzzi & Marcovecchio 2018) y para otros moluscos bivalvos como la ostra *Crassostrea gigas* (La Colla et al., 2018; Chatelain Sartor, 2020). Pero en estudios realizados en otra especie de mejillón, como en el caso de *Mytilus edulis chilensis* y en lapas *Nacella magellanica* en el Canal Beagle, Ushuaia detectaron Pb en el tejido blando (Duarte et al. 2011; 2012). También Giarratano et al. (2013), detectaron este metal en la glándula digestiva del mejillón acanalado *Aulacomya atra atra* en alguno de los sitios de muestreo. Por otra parte, Giarratano & Amin, (2010) mostraron que el mejillón *Mytilus edulis* no acumuló Pb, debido a su asociación con la fracción residual de los sedimentos. En el caso de los sedimentos del EBB, estudios previos han demostrado que el Pb está representado en las fracciones biodisponibles (Botté et al. 2010; Grecco et al. 2011). Por lo tanto, otra posibilidad es un control fisiológico más pronunciado del almacenamiento de Pb en los organismos (Buzzi et al. 2017). Szefer et al. (2006) encontraron que el biso de los mitílidos es más selectivo y sensible a las variaciones en las concentraciones de metales en su entorno (con la excepción de Cd) en comparación con el tejido blando, sugiriendo una transferencia significativamente más efectiva de Pb de tejidos blandos al biso, en contraste con Cd, que es fuertemente acumulado por el hepatopáncreas (George, 1980). Aunque en el presente estudio se descartó el biso, podemos suponer que la ausencia de Pb en los tejidos blandos probablemente se deba a su efectivo traslado a la glándula y/o a la baja tasa de acumulación de Pb como reportaron Boisson et al. (1998) y Shulkin et al. (2003).

Posiblemente, además de lo descripto en párrafos anteriores, otro factor interesante que puede influenciar la mayor acumulación de metales pesados en los organismos recolectados en VV, sitio más interno del estuario, es que la circulación del agua en esta área es más lenta, ya que Perillo et al. (2001) registraron que el tiempo de residencia para el estuario es alrededor de 28 días. Por otro lado, como se mencionó en la metodología, PR se caracteriza por ser un sitio influenciado por el transporte marítimo y la eutrofización provocada por la planta depuradora de Punta Alta con altos impactos en la biota (Berasategui et al. 2018). En este estudio, los mejillines de este sitio presentaron en general la menor bioacumulación de metales, situación que podría tener múltiples explicaciones si se realizara una búsqueda más minuciosa en la bibliografía, abordando otros temas que van más allá del objetivo inicial de esta tesina, pero también se podría plantear nuevamente el aporte que podría haber tenido un mayor caudal de agua en el estuario producto de las condiciones climáticas en generales sufridas en dicho año.

Sedimentos

o *Metales pesados*

Los sedimentos son un importante sumidero de metales y de otros contaminantes; se han descrito como una fuente difusa de metales y los metales adheridos a los sedimentos pueden liberarse en las aguas superiores y afectar negativamente a los organismos acuáticos (Wang et al. 2004). La concentración de metales pesados depende de las fuentes, las características químicas de los elementos, las condiciones físico-químicas y reacciones complejas como adsorción, floculación y condición redox de los sedimentos estuarinos (Establier et al. 1984).

A partir de la información brindada por los gráficos de cada uno de los metales en sedimentos finos en los diferentes sitios de estudio (**Figura 4**), se puede observar que no existe gran variación de los mismos, registrándose un orden diferente al observado en mejillines. De los ocho metales estudiados, se encontró que el Fe y Mn fueron los metales más abundantes presente en los sedimentos, Fe con concentraciones semejantes entre los sitios (según el análisis estadístico). El Fe, se utiliza con frecuencia como indicador de los cambios naturales en la carga de metales pesados de los sedimentos (Regla, 1986), y su nivel está relacionado con la abundancia del componente reactivo metálico no afectado significativamente por las actividades humanas (Luoma, 1990). El Mn es un elemento de baja toxicidad que tiene una importancia biológica considerable y es uno de los metales de transición biogeoquímicos más activos en el medio acuático (Evans et al. 1977).

En el gráfico de sedimentos correspondiente al metal Cd, presenta diferencias respecto a lo observado en mejillines, metal que en varias situaciones estuvo por debajo del LDM, presentando un gran error estándar. La presencia de Cd en VV, como se mencionó previamente podría estar asociada a la utilización de fertilizantes fosfatados que contienen Cd ya que VV, se caracteriza por ser una zona rodeada de campos que descargan el agua de escorrentía hacia el río Sauce chico, cause que desemboca en dicha zona. En cambio, en PR, el Cd detectado podría deberse a la presencia de una terminal de transferencia de petróleo crudo y un muelle principal; y también, como ya se indicó previamente, en este sitio descargan los desechos cloacales de la ciudad de Punta Alta. Además, PR se encuentra en cercanías de Puerto Belgrano, el puerto militar más importante de la Argentina, en cuyas instalaciones se incluye el mayor dique seco del país, donde se reparan, limpian y pintan los cascos de numerosos barcos comerciales y militares (Quintas, 2016).

A nivel estadístico, se encontraron diferencias significativas en la concentración media de metales pesados entre los sitios de estudio, para los metales Cu, Pb, Zn, Mn y para el Cr (**Tablas 7, 8 y 9**). No se encontraron diferencias significativas en Ni, Fe y Cd; lo que, podría significar que en todos los sitios el ingreso de estos metales pudo haber sido semejante, lo cual, no concuerda del todo con lo observado en mejillines. Tanto en mejillines como en sedimentos, no se presentan diferencias entre sitios respecto al metal Ni, que por lo tanto presentaría una entrada a lo largo del estuario bastante homogénea. Según los resultados obtenidos, VV se diferenció del resto de los sitios por presentar una menor concentración de Cu y Pb; con PC por presentar un menor contenido de Mn y con la T, por un menor contenido de Mn y Zn. Por lo que, en VV se registraron las menores concentraciones de los metales pesados Cu, Pb, Zn, Mn,

lo cual se relacionaría con su posición más interna del estuario, alejado de la zona industrial. Más aún, el comportamiento de los metales en la zona interna del estuario fue similar al descripto por Buzzi et al. (2017), quienes atribuyen los niveles más elevados de Cu y Pb en PC tanto a la presencia generalizada de pequeñas embarcaciones de pesca artesanal como a los vertidos de un pequeño arroyo de agua que atraviesa la ciudad de General Daniel Cerri. Además, el arroyo intermitente Saladillo de García que fluye en las cercanías contribuye con descargas de materia orgánica y aguas residuales de la ciudad de General Daniel Cerri (Limbozzi y Leitão 2008). Sumado, a la materia orgánica entrampa metales y puede formar tanto complejos solubles como flóculos insolubles (Gavriil & Angelidis 2005). Considerando también, que como se trató de un año muy lluvioso, podría haber habido una circulación de agua más rápida desde la cabecera hacia la boca del estuario. Por otro lado, se observó el mayor contenido de Zn y Mn en la T, lo que podría asociarse a las descargas de efluentes industriales y cloacales sin tratar procedentes de la ciudad de Ingeniero White; en PC, el Mn también fue mayor que en VV, pero no diferente a la T, por ende, también se podría explicar por los efluentes sin tratar, en este caso de la ciudad de General Daniel Cerri. Respecto al contenido del Cr, la T se diferencia de VV y PR, presentando una mayor concentración de este metal, lo cual podría estar relacionado al igual que con el Zn, con el contenido de residuos industriales.

En relación con otros estudios, los valores de algunos de los metales pesados (Cd, Cu, Pb, Mn y Fe) medidos en los sedimentos finos para el sitio VV, se mostraron muy bajos en comparación con los valores registrados en Buzzi et al. (2017) para la estación primavera durante el período 2011/2012, con su mayor baja en el Fe (45,76 mg/g p.s en 2012; 17,405 mg/g p.s en 2014), a excepción del Pb que se mostró con un valor más grande (3,87 µg/g p.s en 2012; 5,30µg/g p.s en 2014). En PC se observó, una disminución en todos los metales en estudio con mayor preponderancia en el Mn (437,8 µg/g p.s en 2012; 311,32 µg/g p.s en 2014). La disminución de los metales se asocia a lo descripto anteriormente para la zona de VV; pero esa hipótesis no necesariamente explica el aumento de Pb en VV y el de Mn en PC, que quizás estén asociados a otras cuestiones, como la presencia de pequeñas embarcaciones y aumento de efluentes cloacales. Respecto a PR, reportes previos, realizados en sedimentos del Canal Principal en cercanías a este sitio mostraron mayor concentración de Cd, concentraciones semejantes de Zn y Pb y menores concentraciones Cu, Cr y Fe, (Marcovecchio & Ferrer, 2005) observándose mayores diferencias en Cr y Fe, que las concentraciones de metales pesados registradas en este estudio. También, Pizani (2008) registró valores mucho más altos en sedimentos del Canal de Acceso. En estudios posteriores, como en Spetter et al. (2015), se obtuvieron valores semejantes, aunque difieren en el contenido de Zn y Fe, con menores valores encontrados en este estudio en igual sitio de muestreo (Spetter et al., 2015). Pero, considerando el rango de valores obtenidos en la concentración de metales pesados entre los dos sitios de muestreo analizados en dicho trabajo, los valores de metales en PR son coincidentes. Se registraron valores mucho mayores de Cu, Pb, Zn y Fe, semejantes en Ni y Cr y mucho menores de Mn en (Truchet et al. 2020). En Buzzi et al. (2021) se registraron mayores valores de Cu y Fe, semejantes en Cd, Zn, Ni, Pb y Cr, y menores de Mn para el mes de abril del mismo año. Sin embargo, cabe señalar que el análisis de los trabajos pertenecientes a Marcovecchio & Ferrer (2005), Pizani (2008) y Spetter et al. (2015) correspondió a los sedimentos totales y no a los sedimentos finos como en Truchet et al. (2020) y Buzzi et al. (2021) y esta tesina.

Mejillín vs sedimentos

En relación al patrón de distribución de los metales en tejido blando de *B. rodriguezii* y en los sedimentos finos de distintos sitios del EBB, teniendo en cuenta, que en este estudio no se realizaron análisis estadísticos de correlación, a partir de los gráficos se puede observar que el patrón es diferente entre ambas matrices. Resultados similares obtuvieron Buzzi et al. (2017), Giarratano et al. (2010) y Duarte et al. (2011). Una posible explicación es que los mejillines no están en contacto directo con los sedimentos, ya que suelen estar adheridos a las rocas o a las columnas de los muelles. Por lo tanto, solo están expuestos a sedimentos finos que se resuspenden por la acción de las olas. Además, debemos considerar las diferencias en la biodisponibilidad de metales traza. Según Pempkowiak et al. (1999), la especiación de metales en los sedimentos influye en la biodisponibilidad del metal y en consecuencia en la bioacumulación de los mismos por la biota. También es importante resaltar que la técnica de extracción utilizada en este estudio permite la remoción de la carga total de metales pesados de los sedimentos mientras que los mejillines solo incorporan la fracción biodisponible (Förstner, 1989). Además, es bien sabido que varios factores ambientales y biológicos como la salinidad, la temperatura del agua, la estacionalidad, la materia orgánica, la altura de las mareas, el estado reproductivo y el estado fisiológico de los mejillones influyen en la bioacumulación de metales (Szefer et al. 2004; Mubiana et al. 2006). Sumado a esto, los mejillines suelen alimentarse de material particulado y microorganismos del seston y microplancton (Kehrig et al. 2006) que pueden actuar como fuente de metales pesados.

IV. CONCLUSIONES

Se observó una variabilidad espacial en la bioacumulación de metales pesados por el mejillín dentro del estuario, tendiendo a aumentar desde la zona más externa estudiada (PR) hacia la más interna (VV). Esto probablemente se deba al aumento de partículas de alimentos que llevan metales asociados y a la lenta circulación de agua en la zona.

Los niveles de metales pesados en el tejido del mejillín mostraron un patrón diferente al detectado en la fracción fina de sedimentos, probablemente debido a la diferente biodisponibilidad de los mismos en el ambiente o a diferencias en el control fisiológico realizado por los organismos

Los eventos meteorológicos sufridos durante el año de estudio (2014), como fueron las elevadas precipitaciones podrían, sumado a la sequía registrada el año anterior, haber tenido gran relevancia en los resultados finales de las concentraciones de metales pesados en el mejillín b. rodriguezii y en los sedimentos finos.

Finalmente, si bien algunos metales pesados parecen afectar el estado sanitario de *b. rodriguezii*, demostrado en la disminución del IC, para afirmar su utilización como biomonitor se deberían analizar las concentraciones de estos contaminantes en agua y en el material

particulado en suspensión ya que el patrón de distribución del contenido de los metales en los sedimentos resultó distinto al detectado en los mejillines.

V. BIBLIOGRAFÍA

Adami, M. L., Pastorino, G., & Orensanz, J. M. (2013). Phenotypic differentiation of ecologically significant Brachidontes species co-occurring in intertidal mussel beds from the southwestern Atlantic. *Malacologia*, *56*(1&2), 59-67.

Adami, M. L., Tablado, A., & López Gappa, J. (2004). Spatial and temporal variability in intertidal assemblages dominated by the mussel Brachidontes rodriguezii (d'Orbigny, 1846). *Hydrobiologia*, *520*, 49-59.

Anacleto, P., Maulvault, A. L., Nunes, M. L., Carvalho, M. L., Rosa, R., & Marques, A. (2015). Effects of depuration on metal levels and health status of bivalve molluscs. *Food Control*, *47*, 493-501.

Ansari, T. M., Marr, I. L., & Tariq, N. (2004). Heavy metals in marine pollution perspective-a mini review. *Journal of Applied Sciences*, *4*(1), 1-20.

Apeti, D. A., Lauenstein, G. G., & Riedel, G. F. (2009). Cadmium distribution in coastal sediments and mollusks of the US. *Marine Pollution Bulletin*, *58*(7), 1016-1024.

Baumard, P., Budzinski, H., Michon, Q., Garrigues, P., Burgeot, T., & Bellocq, J. (1998). Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *47*(1), 77-90.

Berasategui AA, Biancalana F, Fricke A, Fernández Severini MD, Uibrig R, Dutto MS, Marcovecchio JE, Calliari DL, Hoffmeyer MS (2018). El impacto de los efluentes cloacales sobre la fecundidad y supervivencia de Eurytemora americana en un estuario eutrófico de Argentina. Plataforma de la costa del estuario S 211: 208–216.

Bewers, J. M., Barry, P. J., & MacGregor, D. J. (1987). Distribution and cycling of cadmium in the environment. *Advances in Environmental Science and Technology[ADV. ENVIRON. SCI. TECHNOL.]. 1987.*

Blanco, H. (2002). Una revisión crítica de los procedimientos y enfoques utilizados para evaluar la tolerancia comunitaria inducida por la contaminación (PICT) en comunidades bióticas. *Evaluación de riesgos humanos y ecológicos*, *8* (5), 1003-1034.

Boisson, F., Cotret, O., & Fowler, S. W. (1998). Bioaccumulation and retention of lead in the mussel Mytilus galloprovincialis following uptake from seawater. *Science of the total environment*, *222*(1-2), 55-61.

Borthagaray, A. I., & Carranza, A. (2007). Mussels as ecosystem engineers: their contribution to species richness in a rocky littoral community. *Acta oecologica*, *31*(3), 243-250.

Botello, A. V., García-Ruelas, C., & Ponce-Vélez, G. (2002). PAH levels in bivalve mollusks from the Mexican subtropical Pacific. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, *69*, 486-493.

Botté, S. E. (2005). El rol de la vegetación en el ciclo biogeoquímico de los metales pesados en humedales del estuario de Bahía Blanca. *Ph. D. diss*.

Botté, S. E., Freije, R. H., & Marcovecchio, J. E. (2010). Distribution of several heavy metals in tidal flats sediments within Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Water, Air, & Soil Pollution*, *210*, 371-388.

Brockway, R., Bowers, D., Hoguane, A., Dove, V., & Vassele, V. (2006). A note on salt intrusion in funnel-shaped estuaries: Application to the Incomati estuary, Mozambique. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *66*(1-2), 1-5.

Buzzi, N. S., & Marcovecchio, J. E. (2018). Heavy metal concentrations in sediments and in mussels from Argentinean coastal environments, South America. *Environmental Earth Sciences*, *77*, 1-13.

Buzzi, N. S., Fernández, E. M., Fernandez Severini, M. D., Truchet, D. M., Gilabert, A. S., Villagran, D. M., & Spetter, C. V. (2021). Environmental quality assessment by multiple biogeochemical indicators of an intertidal flat under anthropogenic influence from the southwest of Buenos Aires (Argentina). *Environmental Earth Sciences*, *80*, 1-17.

Buzzi, N. S., Oliva, A. L., Arias, A. H., & Marcovecchio, J. E. (2017). Assessment of trace metal accumulation in native mussels (Brachidontes rodriguezii) from a South American temperate estuary. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*, 15781-15793.

Capelli de Steffens, A.M. & Campo de Ferraras, A.M. (2004). Climatología. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). El ecosistema del Estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 69-78.

Censi, P. A. O. L. O., Spoto, S. E., Saiano, F. I. L. I. P. P. O., Sprovieri, M., Mazzola, S., Nardone, G., ... & Ottonello, D. (2006). Heavy metals in coastal water systems. A case study from the northwestern Gulf of Thailand. *Chemosphere*, *64*(7), 1167-1176.

Chandra Sekhar, K., Chary, NS, Kamala, CT, Suman Raj, DS, Sreenivasa Rao, A., (2003). Estudios de fraccionamiento y bioacumulación de metales pesados ligados a sedimentos en el lago Kolleru por peces comestibles. Reinar. En t. 29, 1001–1008

Chase, M. E., Jones, S. H., Hennigar, P., Sowles, J., Harding, G. C. H., Freeman, K., ... & Taylor, D. (2001). Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic

contaminants in the Gulf of Maine (1991–1997) with the blue mussel, Mytilus edulis L. *Marine Pollution Bulletin*, *42*(6), 490-504.

Chatelain Sartor, G. L. (2020). Bioacumulación de metales pesados en la ostra del pacífico (Crassostrea Gigas) en el Estuario de Bahía Blanca (Sudoeste Bonaerense, Argentina) Bahía Blanca, Buenos Aires. Tesis de Licenciatura, 61 pp.

Chiodi Boudet, L. N.; Dolagaratz A; Buzzi N; Costa A; Medici Sandra; Polizzi Paula; Romero, M. B; Brambilla, E.; Fernandez, Eduardo; Marcovecchio, Jorge E.; Gerpe, M.S. (2022). Metales pesados y arsénico en fertilizantes fosfatados en Argentina: evaluación preliminar. VIII Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental.

Chong, K., & Wang, W. X. (2001). Comparative studies on the biokinetics of Cd, Cr, and Zn in the green mussel Perna viridis and the Manila clam Ruditapes philippinarum. *Environmental Pollution*, *115*(1), 107-121.

Cohen, I. M., & Kundu, P. K. (2004). *Fluid mechanics*. Elsevier.

Commito, J. A., & Rusignuolo, B. R. (2000). Structural complexity in mussel beds: the fractal geometry of surface topography. *Journal of experimental marine biology and ecology*, *255*(2), 133-152.

Commito, J. A., Commito, A. E., Platt, R. V., Grupe, B. M., Piniak, W. E. D., Gownaris, N. J., ... & Vissichelli, A. M. (2014). Recruitment facilitation and spatial pattern formation in soft-bottom mussel beds. *Ecosphere*, *5*(12), 1-26.

Conover WJ, (1980). Practical Non-parametric Statistics. New York: 229–237.

Couceiro, F., Rauen, W., Millward, G. E., Lin, B., Turner, A., & Falconer, R. (2009). Transport and reactivity of nickel in estuarine sediments: results from a high capacity flume. *Marine Chemistry*, *117*(1-4), 71-76.

Cuadrado D., Ginsberg S. & Gómez E. (2004). Geomorfología. En: Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Piccolo M.C. &Hoffmeyer M.S. Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET), Bahía Blanca, Argentina, 29-38.

Das, AP y Mishra, S. (2008). Cromo hexavalente (VI): Contaminante ambiental y peligro para la salud. *J. Medio Ambiente. Res. Dev*, *2* (3), 386-392.

De Souza Machado, A. A., Spencer, K., Kloas, W., Toffolon, M., & Zarfl, C. (2016). Metal fate and effects in estuaries: a review and conceptual model for better understanding of toxicity. *Science of the Total Environment*, *541*, 268-281.

Duarte, C. A., Giarratano, E., & Gil, M. N. (2012). Trace metal content in sediments and autochthonous intertidal organisms from two adjacent bays near Ushuaia, Beagle Channel (Argentina). *Marine environmental research*, *79*, 55-62.

Duarte, C. A., Giarratano, E., Amin, O. A., & Comoglio, L. I. (2011). Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (Mytilus edulis chilensis) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, *62*(8), 1895-1904.

Establier, R., Blasco, J., Gómez, A., & Escobar, D. (1984). Materia orgánica en los sedimentos de la bahía de Cádiz y sus zonas de marismas y salinas. *Investigación Pesquera*, *48*(2), 285-301.

Evans, D. W., Cutshall, N. H., Cross, F. A., & Wolfe, D. A. (1977). Manganese cycling in the Newport river estuary, North Carolina. *Estuarine and Coastal Marine Science*, *5*(1), 71-80.
Farrington, J. W., & Tripp, B. W. (1995). International mussell watch project-final report. *USA: NOAA Administration*, 55-59.

Farrington, J. W., Goldberg, E. D., Risebrough, R. W., Martin, J. H., & Bowen, V. T. (1983). US" Mussel Watch" 1976-1978: an overview of the trace-metal, DDE, PCB, hydrocarbon and artificial radionuclide data. *Environmental science & technology*, *17*(8), 490-496.

Ferrelli, F. (2016). Análisis del clima local y micro-local de la ciudad de Bahía Blanca, Argentina. Bahía Blanca, Buenos Aires. Tesis de Doctorado, 268 pp.

Fialkowski, W., Fialkowska, E., Smith, B. D., & Rainbow, P. S. (2003). Biomonitoring survey of trace metal pollution in streams of a catchment draining a zinc and lead mining area of Upper Silesia, Poland using the amphipod Gammarus fossarum. *International Review of Hydrobiology: A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology*, *88*(2), 187-200.

Forcelli D, Narosky T, (2015). Moluscos marinos de Argentina, Uruguay y Brasil. Vazquez Mazzini editores, Buenos Aires, Argentina: 1-272.

Francioni, E., de LR Wagener, A., Scofield, A. D. L., Depledge, M. H., Cavalier, B., Sette, C. B., ... & Mariath, R. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbon in inter-tidal mussel Perna perna: space–time observations, source investigation and genotoxicity. *Science of the total environment*, *372*(2-3), 515-531.

Freije R.H. & Marcovecchio J.E. (2004). Oceanografía Física. En: Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Piccolo M.C. & Hoffmeyer M.S. (eds). Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, 69- 77

Freije RH, Marcovecchio JE (2007) Oceanografía química. En: Foto-colo MC, Hoffmeyer M (eds) Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía (IADOCONI-CET), Bahía Blanca, págs. 69–78

Freije, R. H., Spetter, C. V., Marcovecchio, J. E., Popovich, C. A., Botté, S. E., Negrín, V., ... & Asteasuain, R. O. (2008). Water chemistry and nutrients of the Bahía Blanca Estuary. *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*, 243-256.

Gallegos, C. L., & Neale, P. J. (2015). Long-term variations in primary production in a eutrophic sub-estuary: contribution of short-term events. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *162*, 22-34.

Gavriil, A. M., & Angelidis, M. O. (2005). Metal and organic carbon distribution in water column of a shallow enclosed Bay at the Aegean Sea Archipelago: Kalloni Bay, island of Lesvos, Greece. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *64*(2-3), 200-210.

George, S. G. (1980). Correlation of metal accumulation in mussels with the mechanisms of uptake, metabolism and detoxification: a review. *Thalassia jugoslavica*, *16*(2–4), 347-365.

Giarratano, E., & Amin, O. A. (2010). Heavy metals monitoring in the southernmost mussel farm of the world (Beagle Channel, Argentina). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*(6), 1378-1384.

Giarratano, E., Gil, M. N., & Malanga, G. (2013). Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel Aulacomya atra atra from Northern Patagonia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *92*, 39-50.

Gil, M. N., Torres, A., Harvey, M., & Esteves, J. L. (2006). Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia argentina continental. *Revista de biología marina y oceanografía*, *41*(2), 167-176.

Goldberg, E. D. (1975). The mussel watch-a first step in global marine monitoring.

Grecco, L. E., Gómez, E. A., Botté, S. E., Marcos, Á. O., Marcovecchio, J. E., & Cuadrado, D. G. (2011). Natural and anthropogenic heavy metals in estuarine cohesive sediments: geochemistry and bioavailability. *Ocean Dynamics*, *61*, 285-293.

Gundacker, C. (1999). Tissue-specific heavy metal (Cd, Pb, Cu, Zn) deposition in a natural population of the zebra mussel Dreissena polymorpha Pallas. *Chemosphere*, *38*(14), 3339-3356.

Hamed, M. A., & Emara, A. M. (2006). Marine molluscs as biomonitors for heavy metal levels in the Gulf of Suez, Red Sea. *Journal of Marine Systems*, *60*(3-4), 220-234.

Hobbie, J. E. (Ed.). (2000). *Estuarine science: a synthetic approach to research and practice*. Island Press.539 p.

Hutchison, Z. L., Hendrick, V. J., Burrows, M. T., Wilson, B., & Last, K. S. (2016). Buried alive: the behavioural response of the mussels, Modiolus modiolus and Mytilus edulis to sudden burial by sediment. *PloS one*, *11*(3), e0151471.

Kehrig, H. A., Costa, M., Moreira, I., & Malm, O. (2006). Total, and methyl mercury in different species of molluscs from two estuaries in Rio de Janeiro State. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *17*, 1409-1418.

Kennish, M. J. (1997). Heavy metals. *Practical handbook of estuarine and marine pollution*, 253-298.

Kruskal WH, Wallis WA, (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. Journal of the American Statistical Association, 47: 583–621.

La Colla, NS, Botté, SE, Negrin, VL, Serra, AV, Marcovecchio, JE, (2018). Influencia de las presiones inducidas por el hombre sobre las concentraciones de metales disueltos y particulados en un estuario sudamericano. Reinar. Monitorear Evaluar. 190, 532.

Laffon, B., Rábade, T., Pásaro, E., & Méndez, J. (2006). Monitoring of the impact of Prestige oil spill on Mytilus galloprovincialis from Galician coast. *Environment International*, *32*(3), 342-348.

Levene, H. (1960). Robust tests for equality of variances. *Contributions to probability and statistics*, 278-292.

Limbozzi, F., & Leitao, T. E. (2008). Characterization of Bahía Blanca main existing pressures and their effects on the state indicators for surface and groundwater quality. *Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press, Lisboa*, 333-349.

Liu, W. C., Chang, S. W., Jiann, K. T., Wen, L. S., & Liu, K. K. (2007). Modelling diagnosis of heavy metal (copper) transport in an estuary. *Science of the total environment*, *388*(1-3), 234-249.

Livingstone, D. R. (1991). Towards a specific index of impact by organic pollution for marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, *100*(1-2), 151-155.

Luoma SN (1990) Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments. In: Furness RW, Rainbow PS (eds) Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press, Inc., Boca Raton, pp 51–66

Magi, E., Liscio, C., Pistarino, E., Santamaria, B., Di Carro, M., Tiso, M., ... & Cosulich, M. E. (2008). Interdisciplinary study for the evaluation of biochemical alterations on mussel Mytilus galloprovincialis exposed to a tributyltin-polluted area. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *391*, 671-678.

Marcovecchio, J. E. (1994). Trace metal residues in tissues of two crustacean species from the Bahia Blanca estuary, Argentina. *Environmental monitoring and assessment*, *29*, 65-73.

Marcovecchio, J. E. (2000). Land-based sources and activities affecting the marine environment at the Upper Southwestern Atlantic Ocean: an overview. *UNEP Regional Seas Reports & Studies*, *170*, 67.

Marcovecchio, J., & Ferrer, L. (2005). Distribution and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research*, *21*(4), 826-834.

Marcovecchio, JE (2014) "Compuestos organoestánnicos presentes en ambiente marinocostero: aspectos generales" en el libro Geoquímica de la Superficie Argentina. Editorial de la Universidad Nacional del Sur. Ediuns, 2014. ISBN 978-987-655-027-7, 183-209 pp.

Marsden, I. D., & Rainbow, P. S. (2004). Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology—the amphipod example. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *300*(1-2), 373-408.

Mauri, M. y Baraldi, E. (2003). Bioacumulación de metales pesados en Mytilus galloprovincialis: un experimento de trasplante en la laguna de Venecia. *Química y Ecología*, *19* (2-3), 79-90.

Mubiana, V. K., Vercauteren, K., & Blust, R. (2006). The influence of body size, condition index and tidal exposure on the variability in metal bioaccumulation in Mytilus edulis. *Environmental Pollution*, *144*(1), 272-279.

Nadal, M., Ferré-Huguet, N., Martí-Cid, R., Schuhmacher, M., & Domingo, J. L. (2008). Exposure to metals through the consumption of fish and seafood by the population living near the Ebro River in Catalonia, Spain: health risks. *Human and ecological risk assessment*, *14*(4), 780-795.

O'Callaghan J, Pattiaratchi C, Hamilton D (2007) La respuesta de la circulación y la salinidad en un estuario de micromareas a las oscilaciones submareales en la elevación de la superficie del mar costero. Investigación de la plataforma continental 27: 1947- 1965

O'Connor, T. P. (2002). National distribution of chemical concentrations in mussels and oysters in the USA. *Marine Environmental Research*, *53*(2), 117-143.

Oliva, A. L., Arias, A. H., Quintas, P. Y., Buzzi, N. S., & Marcovecchio, J. E. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons in mussels from a South American estuary. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *72*, 540-551.

Paletto, V. M., Commendatore, M. G., & Esteves, J. L. (2008). Hydrocarbon levels in sediments and bivalve mollusks from Bahía Nueva (Patagonia, Argentina): an assessment of probable origin and bioaccumulation factors. *Marine Pollution Bulletin*, *56*(12), 2100-2105.

Pempkowiak, J., Sikora, A., & Biernacka, E. (1999). Speciation of heavy metals in marine sediments vs their bioaccumulation by mussels. *Chemosphere*, *39*(2), 313-321.

Penchaszadeh, P. E. (1973). Ecología de la comunidad del mejillín (Brachydontes rodriguezi d'Orb.) en el mediolitoral rocoso de Mar del Plata (Argentina): el proceso de recolonización. *Physis*, *32*(84), 51-64.

Penchaszadeh, P. E. (2004). Caracoles, almejas y mejillones. *La vida entre mareas: vegetales y animales de las costas de Mar del Plata. Publicaciones especiales INIDEP, Mar del Plata*, 253-270.

Perillo, G. M. (1995). Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. In *Developments in sedimentology* (Vol. 53, pp. 17-47). Elsevier.

Perillo, G. M. E., Pierini, J. O., Pérez, D. E., & Gomez, E. A. (2001). Suspended Sediment Circulation in semiclosed docks, Puerto Galvan, Argentina.

Perillo, G. M., & Piccolo, M. C. (1991). Tidal response in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research*, 437-449.

Perillo, GME (2007) ¿Por qué Bahía Blanca es un estuario? En: Piccolo, MC & Hoffmeyer, MS (ed.), 3era edición. Ecosistemas del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina, edi UNS, ISBN 987-9281-96-9.

Phillips, D., & Rainbow, P. (1993). Biomonitoring of trace aquatic contaminants Elsevier Applied Science. *New York*.

Piccolo, M. C., & Perillo, G. M. (1990). Physical characteristics of the Bahía Blanca estuary (Argentina). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *31*(3), 303-317.

Piccolo, M. C., Perillo, G. M. E., & Melo, W. D. (2008). The Bahía Blanca Estuary: an integrated overview of its geomorphology and dynamics. *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*, 219-229.

Piola, R. F., Dafforn, K. A., & Johnston, E. L. (2009). The influence of antifouling practices on marine invasions. *Biofouling*, *25*(7), 633-644.

Pizani, N., (2008). Valorización de las interacciones microfitobentos – sedimentos en planicies de marea impactadas por el dragado hidráulico. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. 224p.

Quintas, P.Y. (2016). "Distribución de los compuestos orgánicos de estaño (OTC) en el estuario de Bahía Blanca". Bahía Blanca, Buenos Aires. Tesis de Doctorado, 169 pp.

Rainbow, P. S. (1995). Physiology, physicochemistry and metal uptake—a crustacean perspective. *Marine Pollution Bulletin*, *31*(1-3), 55-59.

Rainbow, P. S., Fialkowski, W., Sokolowski, A., Smith, B. D., & Wolowicz, M. (2004). Geographical and seasonal variation of trace metal bioavailabilities in the Gulf of Gdansk, Baltic Sea using mussels (Mytilus trossulus) and barnacles (Balanus improvisus) as biomonitors. *Marine Biology*, *144*, 271-286.

Ramdine, G., Fichet, D., Louis, M., & Lemoine, S. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oysters (Crassostrea rhizophorae) from mangrove of Guadeloupe: levels, bioavailability, and effects. *Ecotoxicology and environmental safety*, *79*, 80-89.

Rios EC, (1985). Seashells of Brazil. Ed. FURG. Rio Grande, Brasil: 1-328.

Rovira, J. V. (1993). Estudio de la contaminación por metales pesados del Río Jarama. *Madrid: Tesis Doctoral*.

Rule, J. H. (1986). Assessment of trace element geochemistry of Hampton Roads Harbor and Lower Chesapeake Bay area sediments. *Environmental Geology and Water Sciences*, *8*(4), 209-219.

Savenije, HHG, (2012) Salinity and Tides in Alluvial Estuaries, 2ª edición completamente revisada: salinityandtides.com

Seed R, (1976). Ecology. En: Bayne BL (Ed.). Marine mussels: their ecology and physiology. Chapter 2. Cambridge University Press: 13–65.

Sericano, J. L., Wade, T. L., Jackson, T. J., Brooks, J. M., Tripp, B. W., Farrington, J. W., ... & Goldberg, E. D. (1995). Trace organic contamination in the Americas: an overview of the US National Status & Trends and the International 'Mussel Watch'programmes. *Marine Pollution Bulletin*, *31*(4-12), 214-225.

Servicio Meteorológico Nacional, (2014). Informe de las precipitaciones ocurridas durante transcurso del mes de octubre 2014. http://hdl.handle.net/20.500.12160/2083

Servicio Meteorológico Nacional, (2014). Ranking anual y estacional de los 10 valores más altos y más bajos en temperatura y precipitación a nivel país. https://www.smn.gob.ar/clima/rankingtemprec

Severini, M. D. F., Botté, S. E., Hoffmeyer, M. S., & Marcovecchio, J. E. (2009). Spatial and temporal distribution of cadmium and copper in water and zooplankton in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *85*(1), 57-66.

Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, *52*(3/4), 591-611.

Shulkin, V. M., Presley, B. J., & Kavun, V. I. (2003). Metal concentrations in mussel Crenomytilus grayanus and oyster Crassostrea gigas in relation to contamination of ambient sediments. *Environment international*, *29*(4), 493-502.

Spada, L., Annicchiarico, C., Cardellicchio, N., Giandomenico, S., & Di Leo, A. (2013). Heavy metals monitoring in mussels Mytilus galloprovincialis from the Apulian coasts (Southern Italy). *Mediterranean Marine Science*, *14*(1), 99-108.

Spencer, K. L., MacLeod, C. L., Tuckett, A., & Johnson, S. M. (2006). Source and distribution of trace metals in the Medway and Swale estuaries, Kent, UK. *Marine pollution bulletin*, *52*(2), 226-230.

Spetter, C. V., Buzzi, N. S., Fernández, E. M., Cuadrado, D. G., & Marcovecchio, J. E. (2015). Assessment of the physicochemical conditions sediments in a polluted tidal flat colonized by microbial mats in Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Marine pollution bulletin*, *91*(2), 491-505.

Suchanek JR, T. H. (1979). *The Mytilus californianus community: studies on the composition, structure, organization, and dynamics of a mussel bed*. University of Washington.

Szefer P, Geldon J, Ali A A, Bawazir A, Sad M (1997) Distribución y asociación de metales traza en tejido blando y biso de moluscos perna pernadel Golfo de Adén, Yemen. Entorno internacional 23(1):53–61

Szefer, P., Fowler, S. W., Ikuta, K., Osuna, F. P., Ali, A. A., Kim, B. S., ... & Deslous-Paoli, M. (2006). A comparative assessment of heavy metal accumulation in soft parts and byssus of mussels from subarctic, temperate, subtropical and tropical marine environments. *Environmental Pollution*, *139*(1), 70-78.

Szefer, P., Kim, B. S., Kim, C. K., Kim, E. H., & Lee, C. B. (2004). Distribution and coassociations of trace elements in soft tissue and byssus of Mytilus galloprovincialis relative to the surrounding seawater and suspended matter of the southern part of the Korean Peninsula. *Environmental pollution*, *129*(2), 209-228.

Tanabe, S., Prudente, M. S., Kan-Atireklap, S., & Subramanian, A. (2000). Mussel watch: marine pollution monitoring of butyltins and organochlorines in coastal waters of Thailand, Philippines and India. *Ocean & Coastal Management*, *43*(8-9), 819-839.

Torroglosa, M. E. (2015). *Biología reproductiva y crecimiento de Brachidontes rodriguezii (d´ Orbigny, 1846) en sustratos duros artificiales en playas arenosas de la provincia de Buenos*

Aires (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).

Truchet, D. M., Buzzi, N. S., Simonetti, P., & Marcovecchio, J. E. (2020). Uptake and detoxification of trace metals in estuarine crabs: insights into the role of metallothioneins. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 31905-31917.

Truchet, D. M., Buzzi, N. S., Simonetti, P., & Marcovecchio, J. E. (2020). Uptake and detoxification of trace metals in estuarine crabs: insights into the role of metallothioneins. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 31905-31917.

Usero, J., Morillo, J., & Gracia, I. (2005). Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*, *59*(8), 1175-1181.

Vallarino, E. A., Rivero, M. S., Gravina, M. C., & Elías, R. (2002). The community-level response to sewage impact in intertidal mytilid beds of the Southwestern Atlantic, and the use of the Shannon index to assess pollution. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, *37*(1), 25-33.

Vázquez, NN, Gil, MA, Esteves, JL, & Narvarte, MA (2007). Monitoreo de la contaminación por metales pesados en la Bahía de San Antonio, Río Negro, Argentina. *Boletín de contaminación ambiental y toxicología* , *79* (2), 121-125.

Widdows J, Nasci C, Fossato VU (1997) Efectos de la contaminación en el margen de crecimiento de los mejillones (Mytilus galloprovincialis) de la laguna de Venecia, Italia. Mar Environ Res 43(1–2):69–79

Widdows, J., Lucas, J. S., Brinsley, M. D., Salkeld, P. N., & Staff, F. J. (2002). Investigation of the effects of current velocity on mussel feeding and mussel bed stability using an annular flume. *Helgoland Marine Research*, *56*(1), 3-12.

Wong CKC, Cheung RYH, Wong MH (2000) Concentración de heavy metal traciones en mejillones de labios verdes recogidos en el puerto de Tolo y en los mercados de Hong Kong y Shenzhen. Contaminación ambiental 109:165– 171

Wood, J. M. (1989). Transport, bioaccumulation and toxicity of elements in microorganisms under environmental stress. In *Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment, Geneva* (pp. 1-12)

Zubillaga, M.S.; Lavado, E.S. (2016) Contaminación física y química del suelo debido al uso de fertilizantes. Libro: Sustentabilidad de los agrosistemas y uso de fertilizantes. Editorial: AACS-OGE-Fertilizar O.C. Lugar: Buenos Aires; Año: 2016; p. 119 – 140