



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Tesis Doctor en Biología

**“Dinámica biogeoquímica de nutrientes y metales pesados en
ambientes intermareales de la laguna costera Mar Chiquita:
potenciales efectos ecotoxicológicos sobre especies
claves del ecosistema”**

Lic. María Ornela Beltrame

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2008

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur, y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Área de Oceanografía Química del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Universidad Nacional del Sur (UNS), durante el período comprendido entre el 19 de octubre de 2004 y el 16 de octubre de 2008, bajo la dirección del Doctor Jorge Eduardo Marcovecchio, investigador independiente del CONICET y la codirección de la Dra. Silvia Graciela De Marco, profesora de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP).

Lic. María Ornela Beltrame

Octubre de 2008

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

AGRADECIMIENTOS

Muchas veces durante estos 5 años pensé en quienes no deberían faltar en los agradecimientos de este trabajo. Y parece mentira que hoy llegó el día de estar escribiendo esta parte de mi tesis. Son muchos los que de alguna u otra forma han ayudado para que todos estos años de tanto trabajo hayan sido más fáciles y los haya podido disfrutar.

En primer lugar quiero agradecer a mis directores Jorge y Silvia. Gracias por estos 10 años que llevamos trabajando juntos y en los que siempre confiaron en mí para participar de sus proyectos. Gracias por armarme “la mini sucursal del LQM” en la UNMdP. Y gracias también por darme toda la libertad para trabajar y llevar a cabo mis ideas. Y, especialmente, por la amistad de todos estos años.

A Nedda Chiarello, Sandra Botté, el Vasco Astesuain y Javier Arlengui. Porque gracias a Uds. fue todo más fácil y porque hicieron que se acorten los 500 km que nos separan. Gracias por ayudarme tanto y porque gran parte de este trabajo se los debo a Uds. Mil gracias por todo!!!!

A los directores del IADO, Cintia Pícolo y Gerardo Perillo por permitirme ser parte del IADO sin abandonar mi ciudad.

A todos los integrantes del área de Química Marina del IADO (Nedda, Sandra, el Vasco, Carla, Vanesa, Javier, Andrés, Federico, Lili, el Vasquito) por lo bien que me recibieron cada vez que llegué por allá.

A mis compañeros de cursos de postgrado (Melisa, Florencia, Clara, Andrés) por mantenerme al tanto de las cosas y ayudarme en mis ausencias.

A Melisa por ayudarme con los trámites a distancia.

A todos los que en algún momento me abrieron las puertas de sus casas y me alojaron por una o varias noches (Sandra Botté, Marcelo Peralta y Liliana Del Blanco).

A los de la “casita de geología”, Susana y Martín. Porque siempre fueron muy cordiales conmigo.

AL CONICET, por permitirme poder realizar esta otra etapa de mi vida que hoy está terminando.

A mis compañeras de laboratorio en Mar del Plata, Marita, María Paz, Micaela y Andrea. Gracias por los mates y las charlas compartidas.

A Laura Mauco, porque me enseñó a usar los programas de estadística y porque gracias al subsidio que sacamos pudimos comprar la tan deseada balancita.

A Natalia Damiani, por correrme muchas veces sus abejas para poder usar la estufa.

A los amigos, los de la facu y los de afuera, por estar siempre presentes aunque sea con una pregunta de cómo va la cosa con los cangrejos.

Finalmente quiero agradecer a los que nunca fallan, mi mamá y mi papá, por sentirse orgullosos de mis logros y escuchar tanto quejas como alegrías durante todos estos años. Y a Mati, por estar siempre al lado mío con tanto amor.

ÍNDICE

<i>Introducción General</i>	1
Capítulo I: Estudio de la dinámica biogeoquímica de nutrientes en planicies de marea de la laguna costera Mar Chiquita	11
Introducción.....	12
Materiales y métodos.....	12
- parámetros ambientales.....	18
- nutrientes.....	19
- materia orgánica particulada.....	22
- clorofila <i>a</i> y feopigmentos.....	23
Resultados.....	25
- parámetros hidrográficos y ambientales.....	25
- nutrientes.....	34
- materia orgánica particulada.....	50
- clorofila <i>a</i> y feopigmentos.....	51
Discusión.....	54
Conclusión.....	64
Capítulo II: Estudio de la dinámica biogeoquímica de metales pesados en planicies de marea de la laguna costera Mar Chiquita ...	65
Introducción.....	66
Materiales y Métodos.....	69
- Toma de muestras.....	69
- Procesamiento de las muestras.....	70
- Metodología analítica.....	71
- Descripción de las características del método y equipo utilizado para la determinación del contenido de metales pesados.....	74
- Análisis de datos.....	79
Resultados.....	80
- Metales pesados disueltos.....	80
- Metales pesados en sedimento.....	88
- Material particulado en suspensión.....	91
- Metales en material particulado en suspensión.....	92

- Relación entre metales.....	99
- Partición de metales traza entre la fase particulada y la fase disuelta	101
Discusión.....	102
Conclusión.....	112
Capítulo III: Aporte de nutrientes y metales pesados por los tributarios de la laguna costera Mar Chiquita.....	114
Introducción.....	115
Materiales y métodos.....	120
Resultados.....	122
- Parámetros meteorológicos e hidrográficos.....	122
- Nutrientes.....	127
- Materia orgánica particulada.....	132
- Pigmentos fotosintéticos.....	133
- Material particulado em suspensión.....	135
- Metales disueltos.....	135
- Metales en material particulado.....	141
Discusión.....	148
Conclusión.....	155
Capítulo IV: Bioacumulación de metales pesados en la especie clave <i>Neohelice granulata</i> de la laguna costera Mar Chiquita y su potencial uso como biomonitor.....	156
Introducción.....	157
Materiales y métodos.....	163
- Obtención de los organismos.....	163
- Obtención de hepatopáncreas.....	164
- Obtención de las muestras de huevos.....	165
- Determinación de metales en hepatopáncreas y huevos.....	165
- Análisis estadístico.....	168
Resultados.....	169
Discusión.....	179
Conclusión.....	185

<i>Capítulo V: Ensayos de toxicidad en la especie clave <i>Neohelice granulata</i></i>	186
Introducción.....	187
Ensayo de toxicidad 1.....	192
- Introducción.....	192
- Materiales y métodos.....	194
- Resultados.....	200
- Discusión.....	203
Ensayo de toxicidad 2.....	209
- Introducción.....	209
- Materiales y métodos.....	212
- Resultados.....	218
- Discusión.....	223
Conclusión.....	227
<i>Conclusión general</i>	228
<i>Bibliografía</i>	232

RESUMEN

Las lagunas costeras son ambientes estuariales con una alta dinámica y con características ambientales particulares, pues conectan el límite continental con la zona costera. Estos ecosistemas altamente productivos son relevantes para la conservación de la biodiversidad, ya que son refugio de aves migratorias y de la biota acuática. Sin embargo, son muy sensibles a las actividades antrópicas, puesto que están ubicados al final de las cuencas de drenaje. Se caracterizan por ser sitio de conjunción entre dos flujos hidrológicos: la descarga de agua continental proveniente de los tributarios y las intrusiones marinas.

Mar Chiquita es la única laguna costera del tipo semiobturada de canal largo en la Argentina. Está situada en el partido de Mar Chiquita, al sudeste de la Provincia de Buenos Aires, entre los 37°33' - 37°43' S y los 57°15' - 57°30' O. Esta laguna fue declarada Reserva Mundial de Biosfera por el Programa "Man and Biosphere" de la UNESCO. Posee una cuenca de drenaje que supera los 10.000 km² y recibe el aporte de gran cantidad de arroyos y canales artificiales, los cuales forman una extensa cuenca tributaria, que incluye áreas afectadas por numerosas actividades humanas, principalmente agrícola-ganaderas. Teniendo en cuenta que en esta zona se realiza un uso intensivo de fertilizantes, plaguicidas y otros agroquímicos, la cuenca de drenaje constituye una fuente potencial de contaminantes cuyo destino es esta laguna. Por otra parte, una de las especies claves de este ambiente es el cangrejo cavador *Neohelice granulata*.

En este estudio se analizó la distribución espacio temporal de parámetros hidrográficos (temperatura, salinidad, turbidez, oxígeno disuelto, pH), nutrientes (nitritos, nitratos, amonio, fosfatos y silicatos) y pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y feopigmentos) en agua de columna e intersticial.

Por otra parte, se determinaron las concentraciones de metales pesados, Cu, Zn, Cd, Pb, Cr, Fe y Mn en muestras de sedimentos superficiales, agua intersticial y agua de columna en planicies de marea de la laguna. Además,

estos parámetros también fueron analizados en los tributarios de la laguna con el objetivo de evaluar sus aportes hacia el sistema.

También se analizaron muestras de tejido de *N. granulata* con el fin de evaluar la bioacumulación de metales en esta especie.

Los resultados indican que los nutrientes estuvieron presentes durante todo el año, y en muchos casos sus concentraciones fueron elevadas. Los rangos de concentración para cada uno de ellos fueron: amonio (nd-130,04 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), nitratos (0,99-149 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), nitritos (0,11-2,47 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), fosfatos (0,37-18,72 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) y silicatos (8,17-880,22 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) y presentaron un comportamiento temporal, con un pico máximo de concentración durante los meses de primavera y otro pico de concentración menor a fines de otoño-principios de invierno. Las concentraciones de pigmentos fotosintéticos mostraron un comportamiento similar al de los nutrientes (el rango de concentración de la clorofila *a* fue nd-76,47 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y el de los feopigmentos fue nd-47,34 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Los metales estudiados no presentaron un patrón de comportamiento definido en función al tiempo ni en función a las mareas, y en varias ocasiones presentaron niveles muy elevados. Los rangos presentes de cada metal disuelto en agua de columna (AC) fueron ($\mu\text{g.L}^{-1}$): Cd nd (no detectable)- 4,3; Cu nd-1000,23; Pb nd-850; Zn nd-1224,38; Fe nd-227,15; Cr nd-35,25 y Ni nd-79,84; mientras que en agua intestinal (AI) fueron ($\mu\text{g.L}^{-1}$): Cd nd-1,14; Cu nd-690,28; Pb nd-430, Zn nd-1395, Fe nd-236,07, Cr nd-38,01 y Ni nd-95,65. En tanto, los rangos de los metales en sedimento superficial fueron ($\mu\text{g.g}^{-1}$): Cd 0,86-3,01; Cu nd-21,98; Pb nd-30,49; Zn 5,10-47,68; Fe nd-47900; Cr 0,34-8,45; Mn 58,76-1116,06 y Ni 5,34-34,89. Las concentraciones de metales en material particulado en suspensión (MPS) fueron ($\mu\text{g.g}^{-1}$): Cd nd-58,64; Cu nd-22921; Pb nd-345,84; Zn nd-16922; Fe 49-54680; Cr nd-59,36; Mn 2,87-2415,88 y Ni nd-16327.

El comportamiento de cada uno de los tributarios con respecto a los parámetros hidrológicos, nutrientes y metales pesados fue diferente. Cada uno presentó diferentes concentraciones de los compuestos estudiados de acuerdo a su recorrido y a las fuentes por las cuales atraviesa. Si bien todos los afluentes transportan grandes concentraciones de nutrientes, el Arroyo Grande y el Canal

7 son los tributarios que aportan en mayor grado compuestos nitrogenados hacia la laguna, mientras que los metales pesados son transportados en diferentes magnitudes por cada uno de los tributarios.

Finalmente se realizaron ensayos de toxicidad de Zn en el cangrejo *N. granulata*. Este metal fue seleccionado por considerarlo de potencial riesgo para el ambiente bajo estudio. En esta tesis se evaluaron los efectos que produce este metal, y se demostró que puede interferir tanto en el proceso de muda como en el desarrollo embrionario de esta especie. Desde un punto de vista ecotoxicológico, los efectos observados en los ensayos de toxicidad realizados representan una información de gran utilidad para evaluar el *status* ambiental de esta laguna costera, no sólo considerando los niveles presentes de este metal en este ecosistema, sino también los potenciales efectos de este contaminante sobre su biota.

Los estudios de bioacumulación en *N. granulata* indicaron que esta especie puede considerarse un potencial biomonitor para esta laguna costera.

El conjunto de los resultados obtenidos durante este trabajo permiten sostener que las actividades antrópicas desarrolladas en la cuenca de drenaje, especialmente las actividades agrícola-ganaderas, tienen una gran influencia sobre la condición ambiental de esta laguna.

ABSTRACT

Coastal lagoons are estuarine environments with a high dynamic and particular environment characteristics, because they connect the continental limit with the coastal zone. These highly productive ecosystems are relevant for the biodiversity conservation, since they are refuge for some migratory birds and aquatic biota. However, they are very sensitive to anthropogenic activities, since they are located at the end of the drainage basin. They are sites where two hydrologic flows meet: the continental water discharge of the tributaries and the marine intrusions.

Mar Chiquita is the unique semiobtured and long channel coastal lagoon within Argentine. It is located between 37°33' - 37°43' S and 57°15' - 57°30' W within the Atlantic coast of Buenos Aires Province. It has been declared a Biosphere Reserve under the UNESCO "Man and Biosphere" Programme. It has a tributary basin of 10.000 km². It receives a great input from streams and artificial channels, which together conform an extensive drainage basin, that includes areas with several human activities, mainly agriculture. Considering that in this area an intensive use of fertilizers, pesticides and other agrochemicals is developed, this drainage basin constitutes a potential source of pollution for this lagoon. On the other hand, one of the key species of this environment is the burrowing crab *Neohelice granulata*.

In this study the spatial and temporal distribution of several hydrographic parameters (temperature, salinity, turbidity, dissolved oxygen, pH), nutrients (nitrites, nitrates, phosphates, silicates), ammonium and photosynthetic pigments (chlorophyll *a* and phaeopigments) in column and interstitial water was analyzed.

On the other hand, heavy metal concentrations, (Cu, Zn, Cd, Pb, Cr, Fe y Mn) in samples of superficial sediments, interstitial and column water in intertidal environments were determined. Moreover, these parameters were analysed in all the tributaries and was evaluated the contribution of each one to the lagoon.

Also, *N. granulata* tissues samples were analyzed in order to evaluate the metal bioaccumulation within this species.

The obtained results indicate that nutrients were present during all the year at high concentrations. Nutrient concentrations ranged nd-130,04 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for ammonium, 0,99-149 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for nitrates, 0,11-2,47 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for nitrites, 0,37-18,72 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for phosphates, and 8,17-880,22 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ for silicates. These nutrients showed a seasonal trend, with maximum values during spring and other minor peak during the end of autumn and early winter. Photosynthetic pigments concentrations showed a trend similar to that of nutrients (chlorophyll *a* range was nd-76,47 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and phaeopigments range was nd-47,34 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Heavy metals did not present any particular behaviour, neither temporal or seasonal, nor tidal influence, and occasionally were present in high levels. Concentrations within water column were (in $\mu\text{g.L}^{-1}$ units): nd (no detectable)-4,36 for Cd, nd-1000,23 for Cu, nd-850 for Pb, nd-1224,38 for Zn, nd-227,15 for Fe, nd-35,25 for Cr and nd-79,84 for Ni. Heavy metal concentrations within pore water were (in $\mu\text{g.L}^{-1}$ units): Cd nd-1,14; Cu nd-690,28; Pb nd-430; Zn nd-1395; Fe nd-236,07; Cr nd-38,01 and Ni nd-95,65. Heavy metals concentrations within surface bottom sediments were (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ units) Cd 0,86-3,01; Cu nd-21,98; Pb nd-30,49; Zn 5,10-47,68; Fe nd-47900; Cr 0,34-8,45; Mn 58,76-1116,06 y Ni 5,34-34,89. Heavy metals concentrations within suspended particulate matter (SPM) were (in $\mu\text{g.g}^{-1}$ units): Cd nd-58,64; Cu nd-22921; Pb nd-345,84; Zn nd-16922; Fe 49-54680; Cr nd-59,36; Mn 2,87-2415,88 and Ni nd-16327.

Tributaries behaviour regarding their hydrological parameters, nutrients and heavy metals was different among them, since they showed different concentrations according to their route and sources through which they run. All affluents transported great amounts of nutrients, but Arroyo Grande stream and Canal 7 channel are the main contributors of nitrogen compounds towards Mar Chiquita coastal lagoon, whereas heavy metals are transported in different amounts by each tributary.

Finally, Zn toxicity bioassays on the crab *N. granulata* were developed. This metal was selected because constitutes potential risk for this environment. This study evaluated the effects of this metal on the embryonic development and on the molt process. It was demonstrated that this metal can interfere in both processes and generate deleterious effects. From an ecotoxicological point of view, the observed effects represent information of great utility in order to evaluate the environmental status of this coastal lagoon, considering not only the present levels in this ecosystem, but also the potential effects of this pollutant on the biota.

Bioaccumulation studies on *N. granulata* indicated that this species can be considered as a potential biomonitor within this coastal lagoon.

Results as obtained within this study allows to sustain that anthropogenic activities developed within the drainage basin, specially agriculture activities, have a great influence on the environmental conditions of this coastal lagoon.

INTRODUCCION GENERAL

INTRODUCCION GENERAL

La palabra ecotoxicología fue acuñada por Truhaut en 1969, y deriva de las palabras ecología y toxicología. Recién a mediados de los años 80 nace como respuesta a los problemas de contaminación de aguas epicontinentales, interesándose por el medio marino cuando se hace evidente la capacidad limitada de dilución del mismo, y además cómo los procesos de bioacumulación y adsorción de ciertas sustancias xenobióticas podían aumentar los problemas de toxicidad ambiental (Moriarty, 1983). Se trata, por lo tanto, de una ciencia que estudia el origen de los contaminantes, su transporte entre los distintos compartimientos ambientales, las transformaciones que sufren dichos contaminantes y, finalmente, los efectos que estos producen sobre los ecosistemas.

Ciertos ecosistemas, como los estuarios, son más susceptibles a sufrir procesos de contaminación en comparación con otros. Por lo tanto, el estudio de estos ecosistemas es de fundamental importancia desde el punto de vista ecotoxicológico.

Los estuarios son cuerpos de agua costeros semicerrados que se extienden hasta el límite efectivo de la influencia de la marea, dentro de los cuales el agua salada que ingresa por una o más conexiones libres con el mar abierto, o cualquier otro cuerpo de agua salino, es diluida significativamente con agua dulce derivada del drenaje terrestre, y pueden sustentar especies biológicas eurihalinas ya sea por una parte o la totalidad de su ciclo de vida (Perillo, 1995).

Dentro de la clasificación de estuarios se encuentran las lagunas costeras (Perillo, 1995). Estas lagunas son cuerpos de agua poco profundos, generalmente con profundidades menores a 5 m (excepto en sus bocas), orientados paralelos a la línea de costa, separados del océano por una barrera y conectados al mismo por una o más entradas (Phleger, 1969). Estos ambientes estuariales son sistemas de transición con una alta dinámica y características ambientales particulares, por conectar el límite continental con la zona costera. Estos ecosistemas altamente productivos son relevantes para la conservación de la biodiversidad, pues son refugio de aves migratorias y de la biota acuática. Sin embargo, son muy sensibles a las actividades

antrópicas, por estar ubicados al final de las cuencas de drenaje. Se caracterizan por ser sitio de conjunción entre dos flujos hidrológicos: la descarga de agua continental proveniente de los tributarios y las intrusiones marinas. Las lagunas costeras son especialmente sensibles a impactos antrópicos y a fenómenos de escala global (por ejemplo, el fenómeno de El Niño), por ser sistemas generalmente someros y con un alto tiempo de residencia (Kjerfve, 1994).

Las lagunas costeras son ambientes localizados en zonas de transición ubicadas entre ecosistemas terrestres y zonas marinas adyacentes. Estos ecosistemas están controlados por interacciones complejas entre la tierra, el océano y la atmósfera, lo cual los hace ambientes altamente fluctuantes y vulnerables (Viaroli *et al.*, 2007). En la mayoría de los casos, las actividades humanas poseen una fuerte influencia en estos procesos e interacciones.

En la costa Sureste de Sudamérica (Este de Argentina, Uruguay y Sur de Brasil) se encuentra una extensa área de lagunas costeras las cuales cubren el 12,2 % de sus costas y se conectan con el Océano Atlántico. Muchos de estos sistemas se encuentran legalmente protegidos por su alta diversidad biológica, por ser sitios relevantes para aves migratorias y por representar importantes refugios y zonas de cría de especies de interés comercial. Estos ecosistemas sustentan la pesca artesanal y una importante producción agropecuaria en su cuenca, por lo que suele observarse un gradiente desde lagunas prístinas a eutróficas. Debido a su particular funcionamiento hidrológico, su extensión y su calidad ambiental, estas lagunas son sitios mundialmente singulares para la conservación y el estudio de procesos naturales y del impacto antrópico.

Dentro de los procesos naturales que ocurren en estos ambientes, los biogeoquímicos son sumamente importantes debido a la complejidad y a las características únicas de cada uno de estos ambientes.

El término “biogeoquímica” se refiere a la repartición y al ciclado de diferentes compuestos (entre ellos nutrientes y metales pesados) entre los componentes bióticos (vivos) y abióticos (no vivos) de un ecosistema (DeBusk, 1999a).

Los ciclos biogeoquímicos describen el movimiento y la conversión de materiales por medio de la actividad bioquímica que se producen en la atmósfera, en la hidrósfera y en la litósfera. Éstos comprenden transformaciones físicas (como la disolución, la precipitación, la volatilización y la fijación), bioquímicas (como la biosíntesis, la biodegradación y las biotransformaciones óxido-reductoras), y diversas combinaciones de cambios físicos y químicos. Estas transformaciones pueden causar translocaciones espaciales de materiales como por ejemplo desde la columna de agua al sedimento (Atlas y Bartha, 2002).

El estudio y la interpretación de los ciclos bio-geoquímicos que regulan la concentración y distribución de nutrientes, materia orgánica y metales pesados en los humedales es de trascendente significación oceanográfica y ecológica, considerando que buena parte de los procesos biológicos que suceden en estos ecosistemas (como por ejemplo desove y cría, alimentación, nidificación) dependen de la calidad ambiental del sistema.

Dentro de los nutrientes, el nitrógeno y el fósforo están incluidos entre los elementos esenciales para el crecimiento de las plantas y las algas. Éstos pueden ser reciclados y utilizados en el estuario antes de su egreso a mar abierto. El ciclo del nitrógeno es vulnerable a los cambios producidos por ciertas actividades humanas desarrolladas sobre los ambientes terrestres. Los procesos de eutroficación, originados por cambios en los ciclos biogeoquímicos de nitrógeno y fósforo, son de gran importancia ya que impactan sobre los procesos biológicos desarrollados en ambientes acuáticos (Richardson y Jørgensen, 1996). El nitrógeno es considerado un gran problema de contaminación en ambientes costeros, ya que es en parte responsable de fenómenos de eutroficación, hipoxia, baja biodiversidad y degradación del hábitat (Gil, 2001; Galloway, 2005).

Hay metales que resultan imprescindibles en pequeñas concentraciones para la vida ya que desempeñan papeles fisiológicos vitales; estos metales son llamados esenciales (por ej. Cu y Zn). Sin embargo, otros resultan tóxicos para los seres vivos aún en pequeñas concentraciones (por ej. Pb y Cd), éstos son llamados metales no esenciales, y no son requeridos por los organismos. En cualquier caso, cuando los

metales se encuentran biodisponibles por encima de determinadas concentraciones, ambos esenciales o no, pueden producir efectos adversos en los organismos.

Actualmente, el efecto de los metales pesados como contaminantes es ampliamente reconocido (Giordano *et al.*, 1992), y en los ambientes marinos costeros constituyen un grave problema debido a los efectos negativos sobre los ecosistemas. Cuando éstos entran a las aguas salobres (Ponce-Velez y Botello, 1991; Shimshock, 1992), el peligro de los iones metálicos y en particular de los potencialmente tóxicos, es su combinación con compuestos orgánicos presentes en los sedimentos, y su ingreso a las cadenas alimentarias donde pueden ocurrir procesos de bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación.

Mar Chiquita es la única laguna costera del tipo semiobturada de canal largo en la Argentina (Perillo, 1995). Está situada en el partido de Mar Chiquita, al sudeste de la Provincia de Buenos Aires, entre los 37°33' - 37°43' S y los 57°15' - 57°30' O, aproximadamente a 32 km al noreste de la ciudad de Mar del Plata (*Figura 1*). Esta laguna fue declarada Reserva Mundial de Biosfera por el Programa "Man and Biosphere" de la UNESCO en el año 1996. Además, en el año 1999 fue declarada Reserva Natural de Usos Múltiples, por el gobierno provincial.

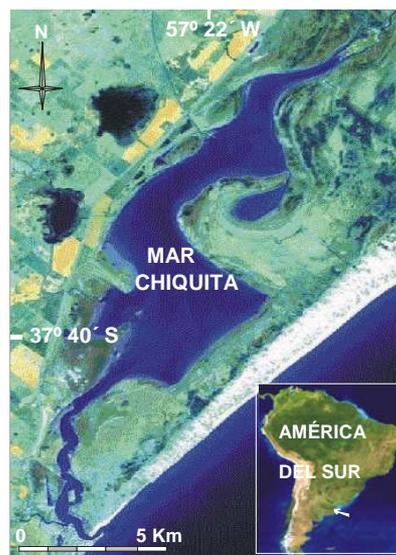


FIGURA 1: UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.

Por su latitud, la laguna Mar Chiquita, inscrita en la región pampeana, pertenece a una zona templada, y está afectada tanto por la influencia de los vientos del sistema de altas presiones del Atlántico Sur como por los vientos cargados de humedad originados por la proximidad al mar (Reta *et al.*, 2001). Considerando sus rasgos climáticos el área se ubica dentro de los climas “templados con influencia oceánica”, con un continuo intercambio de masas de aire entre la interfase tierra-mar (Barry y Chorley, 1980). Según la clasificación de Thornthwaite, la laguna está dentro del área correspondiente a un clima “subhúmedo a húmedo mesotermal con escasa o nula deficiencia de agua”. Por otro lado, si se considera exclusivamente la temperatura del aire, la región está comprendida dentro de los “climas de latitudes medias” limitados por las isotermas medias anuales de 10 y 18° C (Strahler, 1981). Con respecto a las precipitaciones, el área se ubica dentro del régimen de transición con inviernos lluviosos (Prohaska, 1976), donde el período de máximas precipitaciones corresponde a fines de primavera y verano. Datos del Servicio Meteorológico Nacional, 1998 permitieron caracterizar la climatología del área e informar que la temperatura media anual es de 14° C, la humedad relativa anual es de 80%, el valor medio de precipitaciones es de 920 mm, el semestre cálido (octubre-marzo) es el más lluvioso y el frío el menos lluvioso.

En esta laguna se han desarrollado una fauna y una flora específica relacionadas a sus diferentes subambientes: planicies mareales, llanuras de inundación, marismas (distinguiendo dentro de éstas espartillares, hunquillares, duraznillares), deltas mareales, depresiones intermedanosas y paleoplayas compuestas por valvas de moluscos (Isla y Gaido, 2001).

Mar Chiquita es el resultado de la colmatación y restricción de una bahía. Esta laguna tiene su origen en las oscilaciones sufridas por el nivel del mar durante los últimos 5000 años, en los que se han generado procesos de avance y retroceso. Así, un antiguo seno marino quedó aislado por un cordón litoral arenoso; esta extensa cadena de médanos litorales desarrollados en el Pleistoceno (Piccolo y Perillo, 1999) la separa periódicamente del océano, en un proceso costero de dinámica muy intensa (Fasano *et al.*, 1982).

Este ambiente se definió con posterioridad al máximo transgresivo (aproximadamente 5000 A.P.), como consecuencia de un rápido y pequeño descenso del nivel del mar, coincidente con el establecimiento de una barrera hacia el este. Se han distinguido depósitos pleistocénicos continentales y holocénicos transicionales y marinos; en la actualidad el fondo de la laguna está constituido principalmente por sedimento limo-arenoso (Fasano *et al.*, 1982).

De forma alargada e irregular, con una orientación general NNO-SSE, su ancho varía entre los 100 y 4500m, mientras que su largo es de aproximadamente 25 km. La superficie del espejo de agua es de unos 46 km² (Fasano, 1980; Fasano *et al.*, 1982), pero debido a la costa baja que la rodea, cualquier fluctuación del nivel de las aguas se traduce en variaciones considerables de la superficie cubierta de la laguna.

Las profundidades máximas registradas en el canal de acceso en el año 1994 fueron de 1,5 - 2 m, llegando hasta 3 m en la zona próxima a la boca (Reta *et al.*, 1995; Piccolo *et al.*, 1995). La profundidad del canal principal disminuye conforme se avanza hacia el interior de la laguna (Reta *et al.*, 2001).

Los datos más recientes indican que las máximas profundidades no superan los 2,00 m y la mayor parte del cuerpo de la laguna está por debajo de 1,00 m de profundidad. La escasa profundidad de la laguna (0,6 m en promedio) facilita que los vientos generen olas interiores que resuspenden la arena fina y el fango, y que al romper contra las barrancas las erosiona.

La conexión con el océano abierto se realiza por su extremo sur, por medio de un canal de aproximadamente 6 km de largo, 200 m de ancho y una profundidad que varía entre 0,5 y 3 m (Martos y Reta, 1997). La boca muestra una clara desviación hacia el N, evidentemente influenciada por la deriva litoral predominante en ese sentido en toda la costa de la región (Reta *et al.*, 2001).

La desembocadura es angosta y baja (de 15 a 25 m de ancho) y permite una limitada influencia de la marea. La libre comunicación con el mar se ha restablecido en casos extremos de cierre de la boca por medios mecánicos artificiales.

Este ambiente está afectado por mareas de baja amplitud (Lanfredi *et al.*, 1987, Spivak *et al.*, 1994), y algunos informes previos señalan que la influencia se restringe a los primeros 8 km a partir de la desembocadura (Fasano, 1979, 1980). El régimen de

marea es micromareal mixto preponderantemente semidiurno con desigualdades diurnas. El valor medio anual de la altura de marea es de 0,27 m (media aritmética de la pleamar y bajamar media) (Reta *et al.*, 2001). Las amplitudes varían entre 0,6 y 1 m en Mar del Plata (distante a 25 km de Mar Chiquita). En esta laguna costera se produce un retardo horario de marea en relación con la distancia de la desembocadura, de 20 a 30 minutos, y una correspondiente disminución de su amplitud (Isla, 1980; Isla y Gaido, 2001). El componente longitudinal del viento es el principal mecanismo responsable de las oscilaciones del nivel del agua de la laguna (Reta *et al.*, 2001).

Los estudios geo-hidrológicos ponen de manifiesto que la influencia de las aguas subterráneas, así como la dinámica de la boca controlan el comportamiento hidrológico de la laguna (Isla y Gaido, 2001).

Las olas tienen alturas de 0,6 - 0,8 m con períodos de 10 seg. Las corrientes de mareas máximas medidas en el canal principal de esta laguna fueron de 1,3 - 1,4 m/seg y no superan los 0,4 m/seg en el cuerpo de la laguna costera (Lanfredi *et al.*, 1987; Isla, 1997).

Desde el punto de vista hidrográfico, las aguas de la laguna son mixohalinas, la laguna se subdivide en dos ambientes netamente diferentes (Reta *et al.*, 2001; De Marco, 2002; Marcovecchio *et al.*, 2006): un cuerpo lagunar, de aguas típicamente dulces, donde la acción de la marea no es percibida bajo ninguna circunstancia, y un sector de características netamente estuariales, ubicado desde la boca de la laguna hasta donde es percibida la acción de la marea. El límite entre ambos ambientes es sumamente variable y se define por la conjunción de los siguientes parámetros: amplitud de mareas, condiciones meteorológicas y volumen de agua dulce presente en la laguna (Martos y Reta, 1997).

Las aguas de esta laguna son ricas en nutrientes nitrogenados, de fósforo y de silicio durante todo el ciclo anual. Esta laguna es un cuerpo de agua eutrófico y altamente productivo (De Marco, 2002; De Marco *et al.*, 2005).

El aporte de agua dulce es particularmente importante si se tiene en cuenta que su cuenca de drenaje supera los 10.000 km², incluyendo parte de las sierras de Tandilia. Recibe el aporte de gran cantidad de arroyos y canales artificiales,

formando una extensa cuenca tributaria, que incluye áreas afectadas por numerosas actividades humanas, principalmente las actividades agrícola-ganaderas. Teniendo en cuenta que en esta zona se realiza un uso intensivo de fertilizantes, plaguicidas y otros agroquímicos, la cuenca de drenaje constituye una fuente potencial de contaminación cuyo destino es esta laguna.

La conexión estrecha, a través de la cual ingresa el agua de mar, por un lado, y la cuenca tributaria, por otro, hace que cualquier variación de estos dos aportes se traduzca en cambios significativos de salinidad dentro de la laguna. Algunos autores han reconocido condiciones de hipersalinización o dulcificación, en cada caso (Olivier *et al.*, 1972). La salinidad disminuye durante la bajamar y aumenta durante la pleamar. No se encuentra estratificación de la salinidad en la columna de agua, lo cual se debe a la escasa profundidad de la laguna (Reta *et al.*, 2001).

La interpretación de los resultados en investigaciones de campo sobre el impacto de un contaminante, puede ser complementada mediante ensayos de laboratorio, donde las variables pueden ser controladas y los efectos cuantificados. Así, las pruebas de toxicidad en laboratorio, cuya metodología se halla explícitamente tratada -entre otros- en las publicaciones de F.A.O. (1981,1982) y APHA-AWWA-WEF (1998), son ampliamente utilizadas para evaluar la toxicidad real y potencial de sustancias químicas y medir los efectos de la contaminación marina.

Los organismos de prueba utilizados para la realización de los ensayos, deben cumplir con una serie de criterios, entre los que se destaca la importancia ecológica de la especie seleccionada.

De esta forma, el cangrejo cavador *Neohelice granulata* es un excelente organismo para llevar a cabo ensayos de toxicidad para evaluar los efectos de los tóxicos presentes en la laguna Mar Chiquita. Esta elección se realizó por ser un organismo bentónico que vive íntimamente asociado a los sedimentos, y por su gran abundancia e importancia ecológica como estructurador del ecosistema costero, ya que forma cangrejales de varios kilómetros de extensión y por ser una especie clave en este ecosistema.

Esta tesis brinda información integral de la dinámica de los nutrientes y metales pesados en la laguna costera Mar Chiquita y en su cuenca de drenaje. Además, permite sacar conclusiones desde un punto de vista ecotoxicológico.

El trabajo está estructurado de la siguiente manera:

Capítulo I.- Estudio de la dinámica biogeoquímica de nutrientes en planicies de marea de la laguna costera Mar Chiquita.

Capítulo II.- Estudio de la dinámica biogeoquímica de metales pesados en planicies de marea de la laguna costera Mar Chiquita.

Capítulo III.- Aporte de nutrientes y metales pesados por los tributarios de la laguna costera Mar Chiquita.

Capítulo IV.- Bioacumulación de metales pesados en la especie clave *Neohelice granulata* de la laguna costera Mar Chiquita y su potencial uso como biomonitor.

Capítulo V.- Ensayos de toxicidad en la especie clave *Neohelice granulata* de la laguna costera Mar Chiquita.

La laguna Mar Chiquita ha sido objeto de diversos estudios biológicos y geomorfológicos, aunque poco se conoce hasta el presente sobre las características biogeoquímicas de este ecosistema. Las particulares características de este ambiente, al igual que la importancia fundamental de este ecosistema para numerosas especies tanto nativas como migradoras hacen a este estudio de vital relevancia.

Capítulo I

**ESTUDIO DE LA DINÁMICA BIOGEOQUÍMICA DE
NUTRIENTES EN PLANICIES DE MAREA DE LA
LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA**

**Capítulo I.- ESTUDIO DE LA DINÁMICA BIOGEOQUÍMICA DE NUTRIENTES
EN PLANICIES DE MAREA DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA**

I.1- INTRODUCCION

Los humedales son ambientes acuáticos transicionales, que suelen recibir grandes cantidades de materiales provenientes de ecosistemas terrestres que -luego de ser retransformados- son transferidos hacia los sistemas costeros. De esta manera son proveedores potenciales tanto de nutrientes y materia orgánica como de otras sustancias incluyendo contaminantes para los estuarios o zonas costeras aledañas (Freije *et al.*, 1996). Por otro lado, suelen brindar refugio y alimento a numerosas especies (por ejemplo, crustáceos, peces, aves), tanto nativas del sistema como migradoras. Esta función múltiple de área de desove y cría, de alimentación y de nidificación consolida la importancia de los humedales en relación con los sistemas acuáticos asociados.

Las lagunas costeras son sistemas estuariales con una alta dinámica y con características ambientales particulares, ya que conectan el límite continental con la zona costera. Estos ecosistemas altamente productivos son relevantes -entre otras cosas- para la conservación de la biodiversidad. Sin embargo, por estar ubicados al final de las cuencas de drenaje continental son muy sensibles a las actividades antrópicas. Son sistemas extremadamente someros y se caracterizan por ser sitio de conjunción entre dos flujos hidrológicos: la descarga de agua continental proveniente de los tributarios y las intrusiones marinas (Kjerfve, 1994).

Las aguas costeras poco profundas son ecosistemas que naturalmente tienden a la eutroficación, y en las que las dinámicas físicas y biológicas están fuertemente influenciadas por las descargas de agua dulce desde el continente y por el intercambio de agua con el océano abierto (Borum, 1997; Ittekkot *et al.*, 2000). Las principales fuentes de nutrientes en los estuarios incluyen precipitaciones, aportes de agua dulce, aporte desde las marismas, drenaje continental (runoff) y el agua intersticial durante los procesos de resuspensión de los sedimentos. Sin embargo, en

los estuarios ubicados cerca de regiones densamente pobladas el ingreso de nutrientes aumenta notablemente por los aportes desde descargas domésticas e industriales, el drenaje urbano, los criaderos de peces, y los efluentes provenientes de la agricultura, entre otros (por ejemplo, Borum, 1997; Nedwell *et al.*, 2002; Hauxwell y Valiela, 2004).

De esta forma, en estos ambientes se pueden identificar cuatro fuentes potenciales de nutrientes que actúan en diferentes escalas temporales: resuspensión de sedimentos (escala horaria), régimen hidrológico (semanas a meses), estacionalidad (meses) e impactos antrópicos y cambios naturales de mediano a largo plazo (años a décadas).

Entre otros, los ciclos de nitrógeno (N) y fósforo (P) son vulnerables a los cambios producidos por estas actividades (Smayda, 1992; Rabouille *et al.*, 2001) y una de sus principales consecuencias es la eutroficación.

Las lagunas costeras son particularmente vulnerables a la eutroficación por ser regiones restringidas al intercambio con el océano adyacente y, por lo tanto, pueden acumular nutrientes a partir del aporte de las aguas de las inmediaciones (Caumette *et al.*, 1996; Taylor *et al.*, 1999).

La eutroficación es el aumento de nutrientes dentro de un ecosistema acuático. Si bien la eutroficación es un fenómeno natural, éste puede ser acelerado como resultado de las actividades humanas (Richardson y Jørgensen, 1996; Heggie *et al.*, 2002). La eutroficación produce severas consecuencias en la ecología de las aguas costeras, incluso las zonas costeras son eutróficas comparadas con otros ambientes acuáticos antes del inicio de la carga antropogénica (Borum, 1996).

Durante las últimas décadas, gran parte de las aguas costeras y oceánicas han sufrido grandes aportes de nutrientes a partir de actividades humanas, particularmente de N y P, y a este fenómeno muchas veces se lo ha llamado eutroficación antrópica (en inglés "cultural eutrophication") (Hauxwell y Valiela, 2004). De hecho, la eutroficación antrópica es un hilo conductor común que une un amplio rango de problemas registrados en muchas regiones costeras del mundo (por ejemplo, Cloern, 2001; Hauxwell y Valiela, 2004), y que genera cambios en los

patrones de dominancia de comunidades y composición de especies, y ocasiona una elevada productividad primaria (Dolbeth *et al.*, 2003, Lillebø *et al.*, 2005). Además, esta elevada productividad puede causar condiciones locales severas de hipoxia o anoxia, que puede llegar hasta la emisión de sulfuro de hidrógeno, y pueden llevar al colapso a los organismos, especialmente a los florecimientos fitoplanctónicos (Hartnett y Nash, 2004).

El N y el P son nutrientes esenciales para el crecimiento de los organismos. Los procesos de eutroficación, originados por cambios en los ciclos biogeoquímicos de N y P, son de gran importancia ya que impactan sobre los procesos biológicos desarrollados en ambientes acuáticos (Richardson y Jørgensen, 1996). En aguas costeras templadas de diferentes regiones se demostró que el N es el nutriente limitante, mientras que el P frecuentemente lo es en ambientes de agua dulce. En los estuarios, donde se produce la mezcla de aguas dulces con marinas, los cambios temporales y espaciales en las disponibilidades de nutrientes causan cambios en cuanto a las limitaciones de N y P (Doering *et al.*, 1995; Fisher *et al.*, 1999). Debido a las altas descargas antropogénicas de N y P en las aguas costeras, el fitoplancton puede estar nutritivamente limitado debido a la alteración de las proporciones en N:P, Si:P y Si:N (Rocha *et al.*, 2002; Domingues *et al.*, 2005).

En los ambientes costeros, los procesos que generan contaminación por N son considerados graves, ya que son parcialmente responsables de fenómenos de eutroficación, hipoxia, baja biodiversidad y degradación del hábitat (Gil, 2001; Galloway, 2005).

Una de las actividades humanas que aumentan el ingreso de nutrientes a los suelos, y consecuentemente tanto a los ecosistemas acuáticos dulceacuícolas como de transición es el uso agroquímicos (Nedwell *et al.*, 2002).

En Argentina, el uso de los agroquímicos ha aumentado enormemente en los últimos 15 años. Éstos se aplican en grandes cantidades debido a que son relativamente económicos y a que su uso optimiza la producción. Por otra parte, el uso de los plaguicidas (herbicidas, fungicidas e insecticidas) está regulado debido a su riesgo directo sobre la salud humana, mientras que el uso de los fertilizantes no ha sido regulado hasta el momento. En Argentina, la comercialización de

fertilizantes es muy importante y aumenta día a día. Cada año, se introducen nuevos productos y cambios en las tecnologías con el objetivo de aumentar las cosechas, pero sus efectos sobre los suelos y los sistemas acuáticos asociados han sido pobremente estudiados (Rimski-Korsakov *et al.*, 2004; Abril y Roca, 2008).

En la cuenca de drenaje de la laguna costera Mar Chiquita se realiza una intensa actividad agropecuaria. Los residuos y aportes de estas actividades podrían estar afectando a la dinámica biogeoquímica de los nutrientes en este sistema.

De esta forma, el objetivo de este trabajo fue estudiar la dinámica biogeoquímica de nutrientes en planicies de marea de la laguna costera Mar Chiquita

Los objetivos específicos de este capítulo fueron:

- Determinar la dinámica y concentración de nutrientes (compuestos inorgánicos de N (NO_2 , NO_3 , NH_4), P (PO_4) y Si (SiO_2)) en planicies de marea de Mar Chiquita durante un ciclo de marea.
- Estudiar los parámetros hidrológicos (temperatura, salinidad, transparencia, pH, etc.) y meteorológicos (vientos, precipitaciones, etc.) que puedan condicionar la distribución de los nutrientes en el sistema.

I.2- MATERIALES Y METODOS

Se realizaron un total de 19 campañas de muestreo desde el mes de mayo del 2004 al mes de junio del 2006 (*Tabla I.1*). Durante el primer año de muestreo las campañas se realizaron con una frecuencia mensual. En el segundo año la frecuencia de las campañas fue bimestral.

TABLA I.1. FECHAS DE LAS CAMPAÑAS DE MUESTREO REALIZADAS EN LAS 2 ZONAS ELEGIDAS.

Nº campaña	2004	2005	2006
1	5 de mayo		
2	1 de junio		
3	6 de julio		
4	26 de agosto		
5	15 de septiembre		
6	7 de octubre		
7	15 de noviembre		
8	14 de diciembre		
9		11 de enero	
10		24 de febrero	
11		29 de marzo	
12		26 de abril	
13		24 de junio	
14		22 de agosto	
15		18 de octubre	
16		5 de diciembre	
17			28 de febrero
18			27 de abril
19			28 de junio

Para la toma de muestras se eligieron 2 sitios de muestreo separados entre sí por una distancia de 700 m. Uno de ellos fue denominado Confluencia y se encuentra dentro del cuerpo principal de la laguna en una zona próxima a su boca. El otro fue denominado Puente y se encuentra en una zona más alejada del cuerpo lagunar, en una zona donde finaliza el arroyo Vivorotá, uno de los afluentes de la laguna (*Figura I.1*).

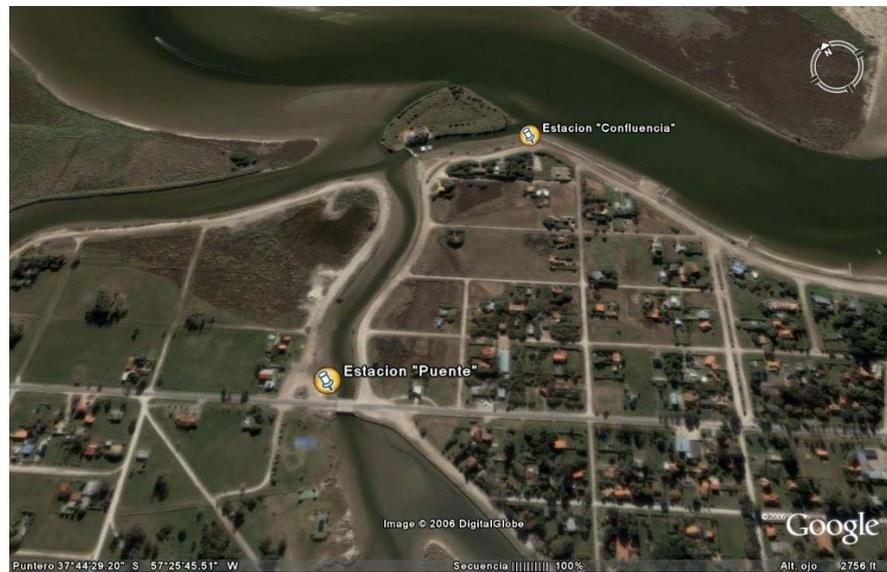


FIGURA 1.1: UBICACIÓN DE LAS ESTACIONES DE MUESTREO DE ESTE ESTUDIO

En cada una de las campañas se tomaron muestras de agua subsuperficial de columna, agua intersticial y sedimento superficial durante la bajamar y la pleamar para la determinación de parámetros hidrográficos, nutrientes, pigmentos fotosintetizadores, materia orgánica y material particulado en suspensión (*Tabla I.2*).

TABLA I.2: DETERMINACIONES REALIZADAS EN CADA UNA DE LAS MATRICES MUESTREADAS DURANTE LAS CAMPAÑAS.

Parámetro o analito	Agua de columna subsuperficial	Agua intersticial
pH	✓	
Conductividad/Salinidad	✓	
Turbidez	✓	
Oxígeno disuelto	✓	
Amonio (NH ₄ ⁺)	✓	✓
Nitritos (NO ₂ ⁻)	✓	✓
Nitratos (NO ₃ ⁻)	✓	✓
Fosfatos (PO ₄ ³⁻)	✓	✓
Silicatos (SiO ₂ ⁻)	✓	✓
Clorofila <i>a</i>	✓	
Feopigmentos	✓	
Material particulado en suspensión	✓	

I.2.1- Parámetros ambientales

Los parámetros hidrográficos obtenidos durante las campañas fueron: Temperatura, pH, Conductividad, Oxígeno Disuelto y Turbidez. Estos parámetros fueron medidos *in situ* utilizando una sonda multisensor Horiba U-10 (debidamente calibrada a través de métodos internacionalmente estandarizados antes de su utilización). Los datos de salinidad fueron obtenidos a partir de los datos de conductividad; multiplicando cada dato de conductividad por un factor de corrección de 0.638.

También se registraron los valores de las precipitaciones caídas durante todo el período de muestreo. Estos datos fueron suministrados por el Servicio

Meteorológico Nacional, obtenidos en la Estación Meteorológica de Mar del Plata, la más cercana al área de estudio, ubicada a 30 km de distancia.

I.2.2- Nutrientes

- Toma de muestras:

Las muestras de agua subsuperficial de columna para la determinación de nitrito, nitrato, fosfato y silicato se recolectaron usando botellas de muestreo (de tereftalato de polietileno, PET) de 0.5 L (Margalef, 1980; APHA-AWWA-WEF, 1998), a unos 15 cm de profundidad, las cuales fueron transportadas en heladera portátil hasta el laboratorio. Antes de tomar cada muestra, los recipientes fueron enjuagados con el agua del lugar.

Para la obtención del agua intersticial se realizaron pozos de aproximadamente 50 cm de profundidad y 40 cm de diámetro y se dejó drenar el agua en su interior. La misma se recolectó utilizando pipetas de vidrio de 250 ml.

Las muestras para la determinación de amonio fueron colocadas en tubos de vidrio de 10 ml de capacidad que contenían una gota de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 3.6 N como preservativo (APHA-AWWA-WEF, 1998). Una vez en el laboratorio fueron almacenadas a 4° C en oscuridad hasta su posterior análisis.

- Procesamiento de las muestras:

Las muestras para la determinación de nutrientes inorgánicos disueltos (NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} y SiO_2^-) fueron filtradas, utilizando membranas de fibra de vidrio Whatman GF/C, de 47 mm de diámetro y un tamaño de poro de 1.2 μm , a una presión de vacío controlada, y conservadas en frascos plásticos de 30 ml en el freezer (a -20°C) hasta el momento de su análisis (Grasshoff, 1976; McDonald y McLaughlin, 1982; APHA-AWWA-WEF, 1998).

- Metodología analítica:

La determinación de la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos se realizó en forma automática usando un analizador automático Autoanalyzer® Technicon II. El analizador automático utilizado en este caso consta de cuatro canales (para la determinación de nitrito, nitrato, fosfato y silicato) y fue ampliado a cinco canales (para la determinación de amonio).

Nitritos:

La determinación colorimétrica de la concentración de nitrito en agua de mar se realizó haciendo uso de la reacción de diazotación entre el nitrito y la sulfanilamida en medio ácido. El compuesto obtenido reacciona con la amina aromática, N-(1 naftil) etilendiamina, a través de una reacción de copulación para formar un compuesto azoico color rojo que presenta un máximo de absorción a 540 nm, según el método de Benschneider y Robinson (1952). La automatización del método se hizo siguiendo el procedimiento descrito por Grasshoff *et al.* (1983).

Nitratos:

Para determinar la concentración de nitrato se hizo pasar a la muestra por una columna de reducción compuesta de Cd recubierta por Cu (cadmio cuperizado), en donde el nitrato es reducido a nitrito con rendimientos estables y elevados (Treguer y Le Corre, 1975a). El nitrito allí formado fue determinado colorimétricamente según el método de Benschneider y Robinson (1952) descrito anteriormente.

Amonio:

La concentración de amonio se determinó según la modificación del método de Richards y Klestch (1964) descrito por Treguer y Le Corre (1975b).

El amonio en medio fuertemente básico es oxidado a nitrito por la presencia de hipoclorito de sodio. El exceso de hipoclorito es destruido por una solución de arseniato de sodio y luego el nitrito formado se determinó según el método de Benschneider y Robinson (1952) detallado anteriormente.

Fosfato:

La determinación de la concentración de fosfato se realizó siguiendo método de Eberlein y Kattner (1987), basado en el método original de azul de molibdeno de Murphy y Riley (1962). En este caso, los iones ortofosfatos reaccionan con el molibdato de amonio para formar un complejo color amarillo, el fosfomolibdato de amonio, que luego de la reducción da una coloración azul. Como agente reductor se utiliza ácido ascórbico pues se obtienen resultados reproducibles y brinda la ventaja de poder utilizar un único reactivo formado por: ácido sulfúrico (H_2SO_4), Molibdato de Amonio hidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 7\text{H}_2\text{O}]$, ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) y tartrato de antimonio y potasio $[\text{K}(\text{SbO})\text{-C}_4\text{H}_4\text{O}_6\cdot 0.5\text{H}_2\text{O}]$. Al circuito analítico, además, se le agrega un agente de lavado que contiene 2.5 mL del "Aerosol 22" (Technicon GmbH, Bad Vilbel, FRG) en 1L de agua bidestilada.

Silicato:

El procedimiento automático para la determinación de silicatos solubles en agua de mar se basa en la reducción del silicomolibdato en solución ácida a "azul de molibdeno" por medio de ácido ascórbico (Technicon®, 1973). Ácido oxálico es introducido a la muestra antes del agregado del ácido ascórbico para eliminar la interferencia producida por los fosfatos.

I.2.3- *Materia orgánica particulada (M.O.P.)*

- Toma de muestras:

Se realizó tal como se indicó previamente para la toma de muestras de nutrientes.

- Procesamiento de las muestras:

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron filtradas inmediatamente para la determinación de la MOP, con membranas de fibra de vidrio Whatman GF/C (47 mm de diámetro y 1.2 μm de tamaño de poro) previamente muflados a 450 - 500 °C durante 30 min. en sobres de papel aluminio. El volumen filtrado por cada filtro fue entre 100-300 ml dependiendo de la concentración de material particulado en suspensión (MPS) de la muestra. Cada muestra fue analizada por duplicado. Para conservar la muestra se le agregó al filtro, con el contenido del filtrado, 4 ml de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) 0.32 M. Luego, los filtros fueron plegados y colocados cuidadosamente en los mismos sobres de papel aluminio y almacenados en la heladera hasta su análisis.

- Metodología analítica:

El contenido de MOP se determinó siguiendo el método descrito por Strickland y Parsons (1968), que consiste en una oxidación húmeda de la materia orgánica mediante dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) en medio ácido. El principio de este método es medir la disminución en la absorbancia del color amarillo del dicromato (Cr^{+6}) luego de su reducción (a Cr^{+3}) por la materia orgánica presente. Las lecturas de absorbancia se realizaron utilizando un espectrofotómetro UV-visible, Beckman DU-2, usando celdas de 1 cm de camino óptico, a una longitud de onda de 440 nm. El estándar usado fue glucosa.

1.2.4- Clorofila *a* y Feopigmentos

- Toma de muestras:

Se realizó como se indicó previamente para la toma de muestras de nutrientes.

- Procesamiento de las muestras:

Los filtros utilizados para la determinación de nutrientes fueron conservados en la oscuridad, plegados dentro de sobres de papel aluminio y refrigerados para la posterior determinación de Clorofila *a* y feopigmentos (APHA-AWWA-WEF, 1998). Se registró exactamente el volumen filtrado, el cual varió entre 100-300 ml por cada filtro dependiendo de la concentración de MPS de la muestra. Las muestras fueron analizadas por duplicado.

- Metodología analítica:

El contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a* y feopigmentos) se determinó de acuerdo al método espectrofotométrico recomendado por APHA-AWWA-WEF (1998). Este método consiste en una extracción de los pigmentos con solvente orgánico (Acetona 90%).

Las lecturas de absorbancias de los extractos se realizaron en un espectrofotómetro UV-visible, Beckman DU-2, utilizando celdas de 5 cm de camino óptico, a una longitud de onda de 750 y 665 nm, antes y después del agregado de HCl 0.1 N, para la determinación de clorofila *a* y de los feopigmentos, respectivamente.

ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL:

Todo el material utilizado en la toma y procesamiento de las muestras como el usado para realizar las determinaciones anteriores se acondicionó de la siguiente manera: fue lavado con detergente no iónico al 1%, enjuagado con agua de red, sumergido en HCl 10% (v/v) durante 24 h. Luego, fue enjuagado nuevamente con agua de red, varias veces; fue enjuagado 3 veces con agua destilada y finalmente llevado a sequedad (Gardolinski *et al.*, 2001).

NOTA:

Las determinaciones de nutrientes, MOP, clorofila *a* y feopigmentos se realizaron en el Laboratorio de Química Marina, del Área Oceanografía Química del IADO.

I.3- RESULTADOS

I.3.1- Parámetros hidrográficos y ambientales

I.3.1.1- Precipitaciones

En la *Figura I.2* se puede observar que las mayores precipitaciones registradas en la Estación Meteorológica de Mar del Plata fueron durante los meses de agosto del 2004 y 2005, febrero del 2004, y enero y febrero del 2005. Los meses más secos durante los años de muestreo fueron los del otoño.

Las precipitaciones fueron de 746,5 mm durante el primer año de estudio y de 734,2 mm durante el segundo año.

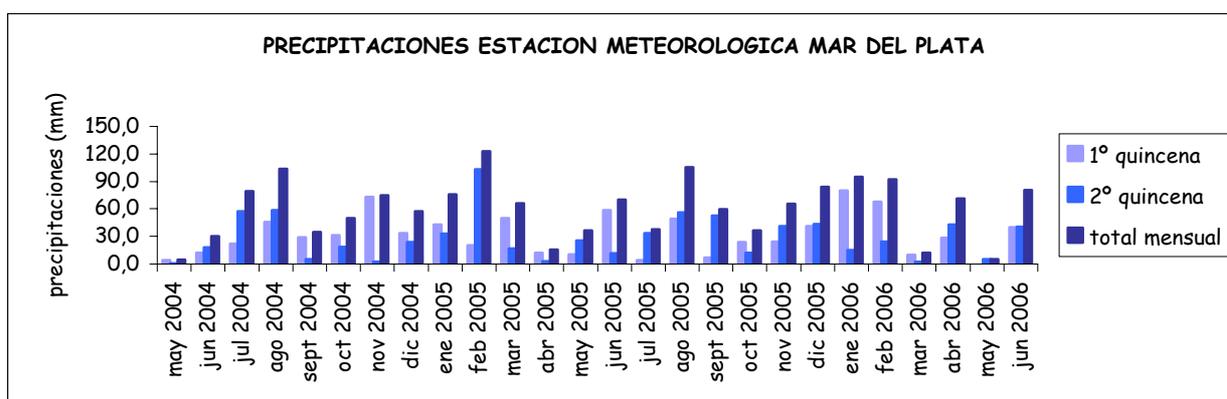


FIGURA I.2. DISTRIBUCIÓN DE LAS PRECIPITACIONES MEDIAS QUINCENALES Y MENSUALES DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MAYO 2004 - JUNIO 2006) REGISTRADOS EN LA ESTACIÓN METEOROLÓGICA DE MAR DEL PLATA.

I.3.1.2- Temperatura

La *Figura I.3* muestra la distribución de las temperaturas del agua superficial obtenidas en las dos estaciones de muestreo. En ambas Estaciones de muestreo la distribución de temperaturas siguió un patrón similar. Las temperaturas más altas se registraron durante los meses de primavera y verano, y las más frías durante los

meses de junio, julio y agosto (invierno). Se observa que las temperaturas en la Estación Confluencia variaron entre un mínimo de 8,2 °C en el mes de julio de 2004 y un máximo de 28,85 °C en el mes de enero de 2005; mientras que en la Estación Puente las temperaturas variaron entre los 7,7 °C en el mes de julio de 2004 y los 30,75 °C en el mes de enero de 2005.

En el primer año de muestreo la temperatura registrada durante los meses cálidos fue más elevada que en el segundo año.

En cada campaña estos datos no fueron registrados siempre a la misma hora del día, aunque los mismos fueron tomados siempre durante las horas de sol, entre las 8.00 AM y las 4 PM.

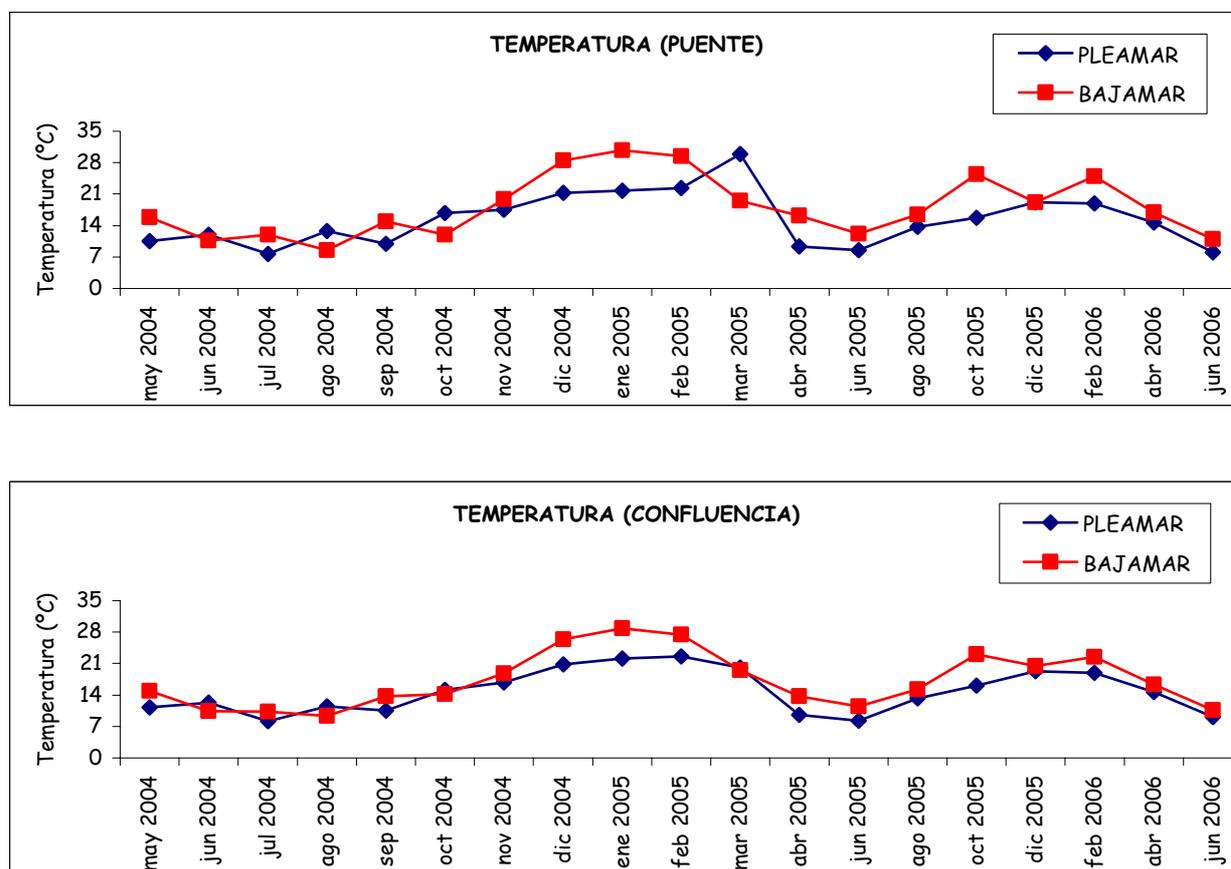


FIGURA 1.3. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LA TEMPERATURA SUPERFICIAL DEL AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.1.3- Salinidad

Los valores de salinidad registrados durante las diferentes campañas de muestreo mostraron grandes fluctuaciones en ambas estaciones (*Figura I.4*). Los rangos de salinidad registrados fueron de: 2,46 – 34,45 u.p.s. en la Estación Puente y de 1,67 – 34,36 u.p.s. en la Estación Confluencia, observándose los mayores valores durante los meses de primavera, verano y comienzos del otoño, y los menores durante los meses de invierno. También se observaron grandes fluctuaciones de salinidad entre la pleamar y la bajamar para una misma campaña en ambas estaciones de muestreo. Sin embargo, estas variaciones fueron diferentes en cada estación. En la Estación Confluencia, las salinidades durante la pleamar fueron iguales o generalmente mayores que las salinidades en bajamar. Estas variaciones fueron hasta de casi 20 u.p.s. en algunas campañas. Sin embargo, en la estación Puente, también se observaron estas diferencias, pero en 6 de las 19 campañas realizadas, las salinidades durante la bajamar fueron mayores que las de la pleamar, con una diferencia de hasta 15 u.p.s.

Las tendencias de la distribución de salinidad a lo largo del período de estudio mostraron ser significativamente dependientes de condiciones meteorológicas (precipitaciones y temperatura) así como de condiciones hidrográficas (mareas, efectos de mezcla de aguas, etc) y geomorfológicas.

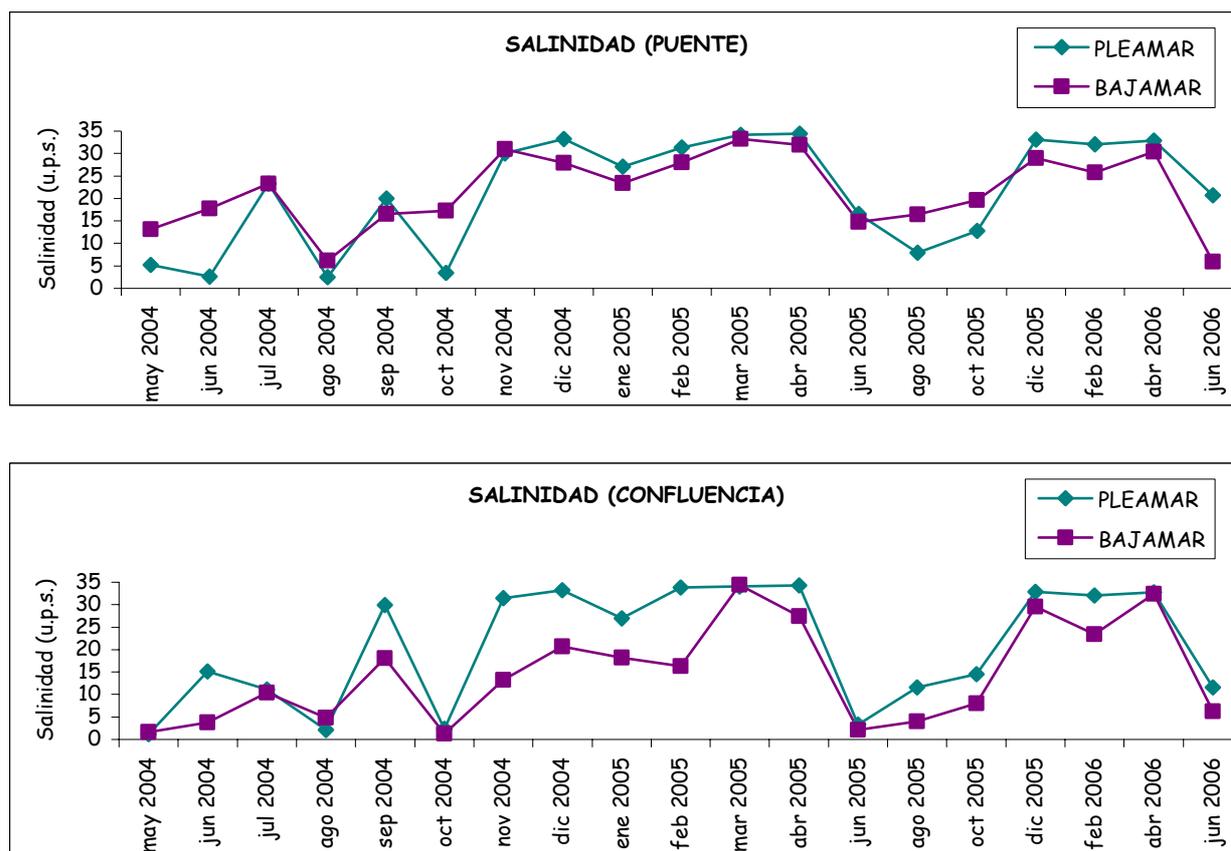


FIGURA 1.4. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LA SALINIDAD DEL AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

1.3.1.4- pH

En la *Figura 1.5* se observa la distribución de los valores de pH. En la Estación Confluencia el pH fluctuó entre 7,06 en la pleamar de la campaña de diciembre de 2006 y 9,6 en mayo de 2004, registrándose una fluctuación de dos unidades y media de pH a lo largo del año. Los valores entre la bajamar y la pleamar en cada campaña fueron muy similares, a excepción de la campaña de diciembre de 2005 donde la variación fue de una unidad menor durante la pleamar.

En la Estación Puente el pH fluctuó entre 6,97 en la pleamar de la campaña de diciembre de 2005 y 9,98 en la pleamar de la campaña de junio de 2004, con una fluctuación de 3 unidades de pH a lo largo del año. Los valores entre la pleamar y la bajamar variaron más que en la Estación Confluencia, y fueron en algunos casos

mayores durante la pleamar y en otras ocasiones menores. La mayor variación se registró en octubre de 2004 con una diferencia de 1,5 unidades de pH.

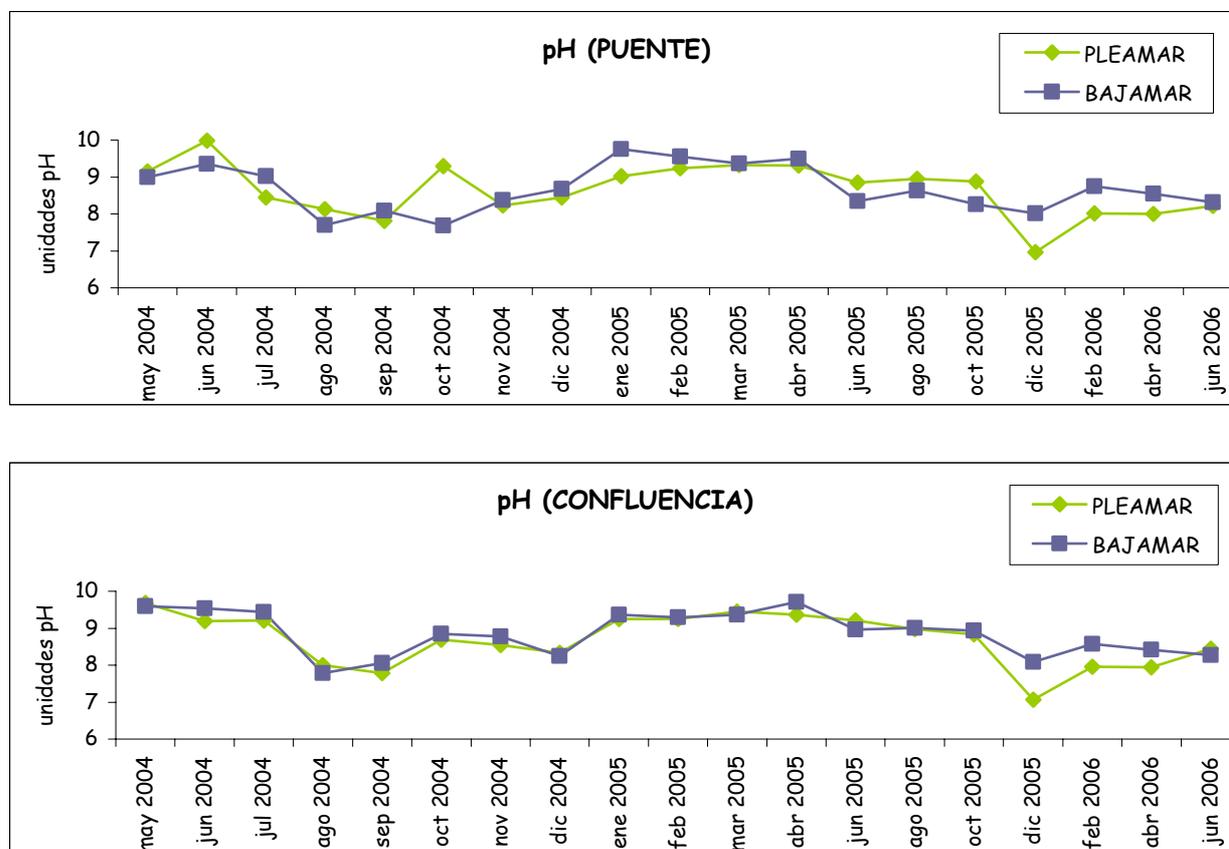


FIGURA 1.5. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DEL pH DEL AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I. 3.1.5- Oxígeno disuelto y % Saturación de Oxígeno

Los valores de oxígeno disuelto registrados en la Estación Confluencia fueron altos, y variaron entre 6,14 - 14,07 mg.L⁻¹, con porcentajes de saturación entre 74 - 167 %. Los mayores valores se encontraron durante los meses de otoño-invierno, y los menores durante el verano. Los valores de las pleamares y bajamares de cada campaña son muy similares, siendo levemente superiores durante la bajamar en la mayoría de los meses.

En la Estación Puente, en cambio, los valores de oxígeno disuelto mostraron una gran fluctuación, con un rango de 1,93 - 15, 8 mg.L⁻¹, con porcentajes de saturación de oxígeno entre 26 - 182 %. En general, los valores entre pleamar y bajamar de cada campaña mostraron grandes variaciones, siendo algunas veces mayores durante las pleamares y en otras mayores durante las bajamares. La mayor amplitud se observó durante el mes de febrero de 2006, con una diferencia de más de 6 mg.L⁻¹ entre pleamar y bajamar. En este caso, los valores fueron muy variables a lo largo del año, y no se observó una variación estacional del oxígeno disuelto (*Figuras I.6 y I.7*).

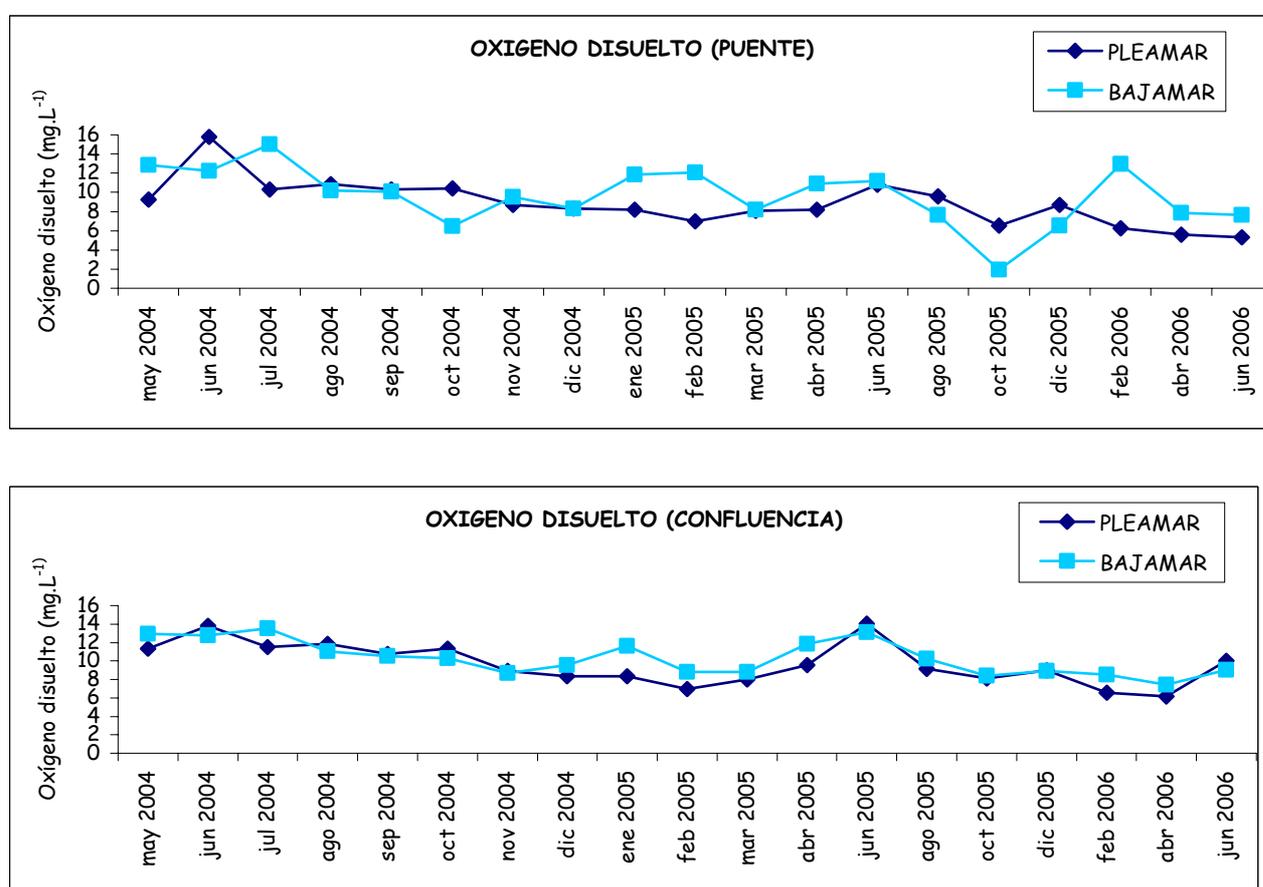


FIGURA I.6. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DEL OXÍGENO DISUELTO DEL AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

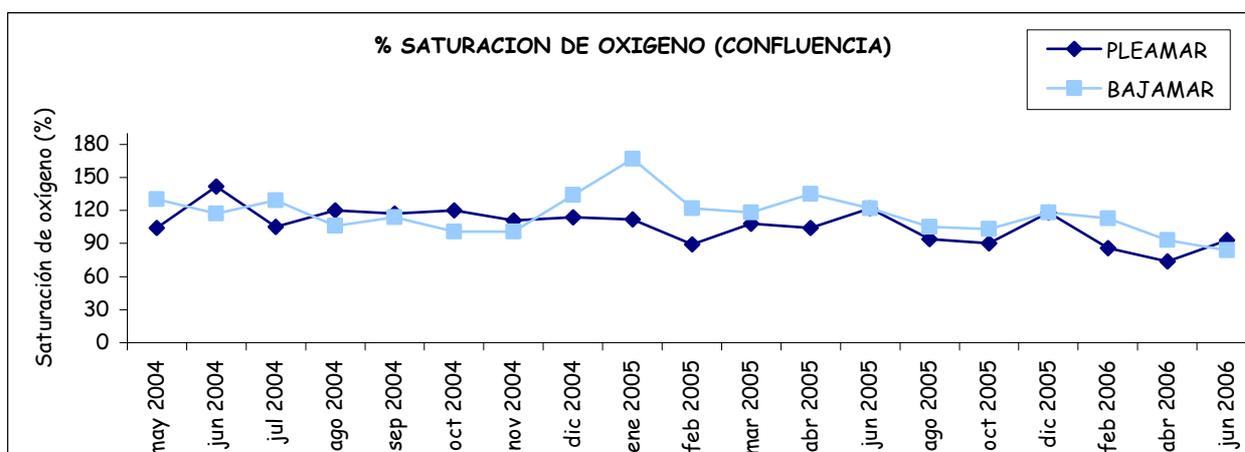
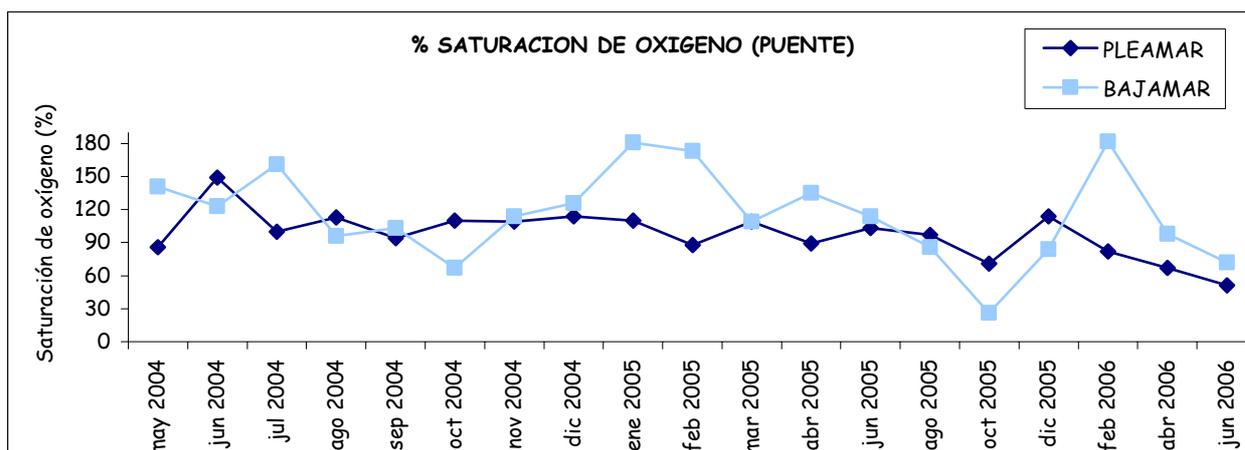


FIGURA I.7. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DEL % DE OXÍGENO DISUELTO DEL AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.1.6. Turbidez

Los valores de turbidez fueron muy altos y muy variables (*Figura I.8*). En la Estación Puente los valores fluctuaron entre 17 - 385 UNT; mientras que en la Estación Confluencia variaron entre 15,5 - 260 UNT.

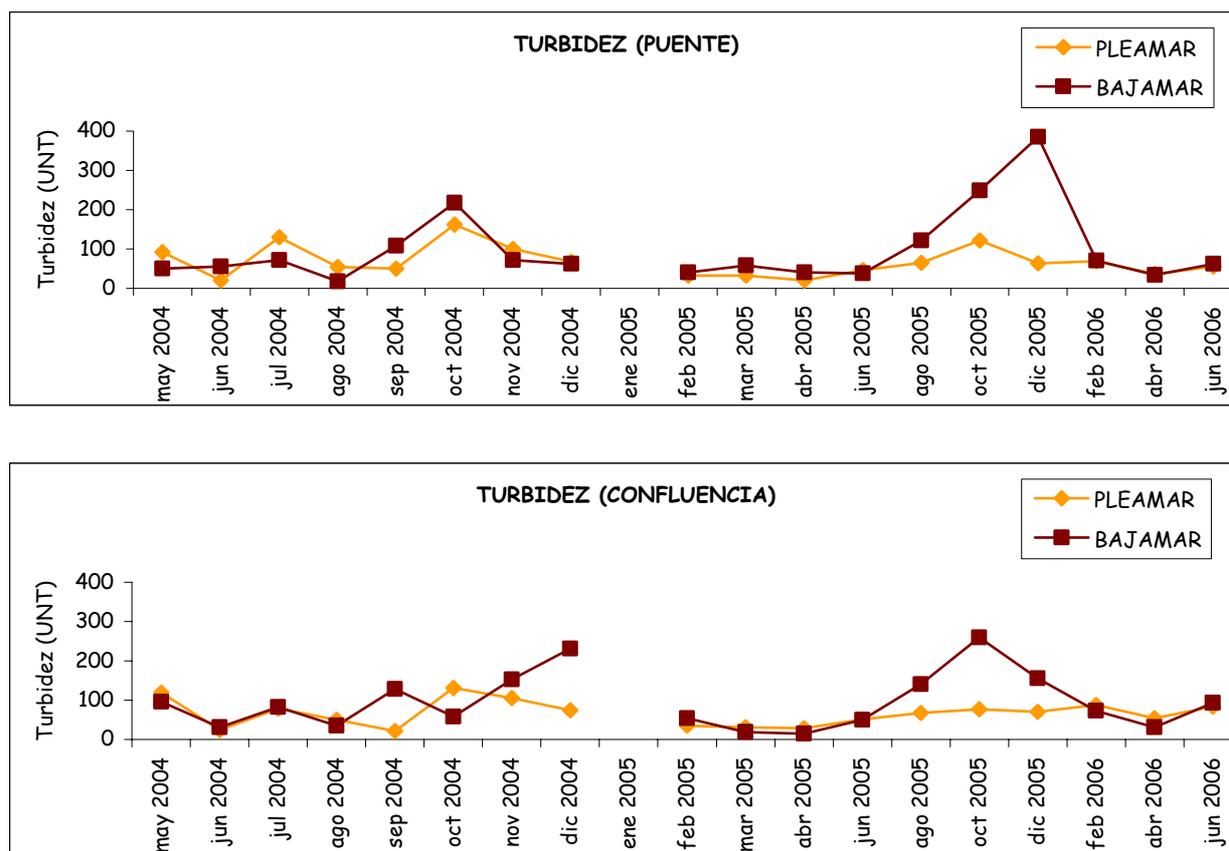


FIGURA 1.8. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LA TURBIDEZ DEL AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

1.3.1.7- Valores medios anuales de los parámetros hidrográficos

La **tabla I.3** resume los datos promedios totales durante bajamar y pleamar en ambas estaciones de muestreo durante las 19 campañas realizadas. Se incluye el número de datos y la desviación estándar. La falta de datos en algunas campañas se debió a problemas técnicos.

TABLA I.3. VALORES MEDIOS TOTALES, DESVIACIÓN ESTÁNDAR (D.S.) Y NÚMERO DE DATOS (N) DE LA TEMPERATURA, SALINIDAD, PH, OXÍGENO DISUELTO, % SATURACIÓN DE OXÍGENO Y TURBIDEZ DEL AGUA DE COLUMNA SUBSUPERFICIAL DE LAS ESTACIONES CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE BAJAMAR Y PLEAMAR PARA EL PERÍODO DE ESTUDIO.

		Estación Confluencia		Estación Puente	
		bajamar	pleamar	bajamar	pleamar
Temperatura (°C)	Media	17,22	14,75	18,11	15,28
	D.S.	6,16	4,82	6,8	5,97
	<i>n</i>	19	19	19	19
Salinidad (u.p.s.)	Media	14,53	20,76	21,66	21,22
	D.S.	11,03	13,01	8,36	12,11
	<i>n</i>	19	19	19	19
pH (unidades pH)	Media	8,86	8,7	8,68	8,65
	D.S.	0,59	0,7	0,61	0,71
	<i>n</i>	19	19	19	19
Oxígeno disuelto (mg.L ⁻¹)	Media	10,33	9,66	9,65	8,85
	D.S.	1,86	2,24	3,04	1,34
	<i>n</i>	19	19	19	19
% saturación de oxígeno	Media	116,42	106,47	115,32	97,68
	D.S.	18,46	16,03	41,02	21,59
	<i>n</i>	19	19	19	19
Turbidez (u.n.t.)	Media	94,83	66,14	97,3	54,1
	D.S.	70,88	32,39	94,39	39,38
	<i>n</i>	18	18	18	18

I.3.2- Nutrientes

I.3.2.1. Nitritos

La distribución espacio temporal de los nitritos mostró tendencias similares. (*Figura I.9*). En el agua de columna a fines del verano las concentraciones de nitrito se aproximan a cero y durante el otoño comienzan a regenerarse hasta llegar a las máximas concentraciones durante los meses de junio a octubre. Las concentraciones más elevadas fueron de $1,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ en octubre de 2004, $1,8 \mu\text{mol.L}^{-1}$ en junio de 2005 y de $2,47 \mu\text{mol.L}^{-1}$ en junio del 2005. Los valores presentes en las bajamares y pleamares de un mismo ciclo de marea fueron similares, sin observarse un comportamiento diferencial.

En el agua intersticial, también se observa un comportamiento similar de las concentraciones de nitritos en ambas estaciones. Las concentraciones de éstos son similares o ligeramente menores a las encontradas en el agua de columna, aunque en el agua intersticial se encontraron dos picos con valores mayores a los presentes en el agua de columna. Las concentraciones más elevadas encontradas fueron de $5,71 \mu\text{mol.L}^{-1}$ y de $12,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ en diciembre de 2004 y febrero de 2005 respectivamente.

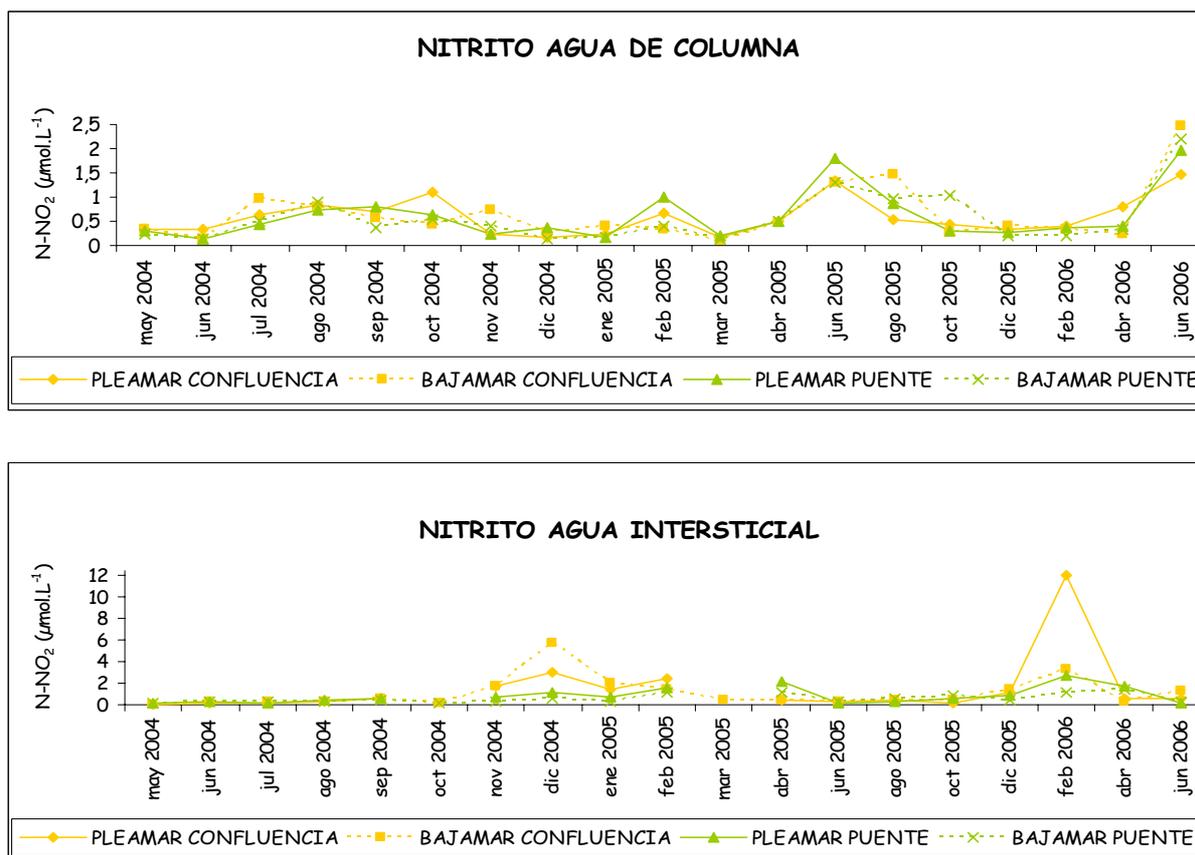


FIGURA I.9. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE NITRITOS EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.2.2- Nitratos

En la distribución de nitratos de ambas Estaciones de muestreo se puede observar que las máximas concentraciones se presentan en el agua intersticial (Figura I.10).

En el gráfico de las concentraciones en agua intersticial, se observa que en la Estación Confluencia el comportamiento del nitrato es similar a la Estación Puente en cuanto a los meses de mayores y menores concentraciones; pero en la Estación Confluencia las concentraciones máximas son hasta 5 veces mayores que las concentraciones de la Estación Puente. Las máximas concentraciones encontradas fueron de 66,26; 511,62; 239,59; 146,7 y 408,92 µmol.L⁻¹ en los meses de julio y noviembre de 2004, febrero, agosto y diciembre del 2005 respectivamente durante la

bajamar. Durante la pleamar se observaron 3 picos de concentración de 295,65; 273,75 y 215,98 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en los meses de noviembre de 2004, y febrero y diciembre de 2005. En la Estación Puente, se presentó un pico de concentración de nitratos durante la bajamar de 98 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en el mes de julio de 2004, descendiendo abruptamente hasta la aparición de otro máximo de concentración en el mes de noviembre de 2004 de 183,37 y 127,16 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ durante la bajamar y pleamar respectivamente. Luego las concentraciones vuelven a descender hasta presentarse nuevamente otros máximos de concentración en los meses de febrero y marzo de 2005, pero en estos casos con concentraciones de menor magnitud. Posteriormente se observaron aumentos de las concentraciones de nitrato en el agua de columna en los meses de junio de 2005 y 2006, así como un leve aumento a fines del verano comienzo del otoño en el agua intersticial.

En el agua de columna también se observaron concentraciones mayores en la Estación Confluencia. Se presentaron 3 picos de máxima concentración durante la bajamar de 82,9; 64,18 y 68,24 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en los meses de julio de 2004, agosto de 2005 y junio de 2006, respectivamente; y 3 picos durante la pleamar, uno de 341,3 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en el mes de junio del 2005, otro de 100,48 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en diciembre de 2005 y el último de 83,39 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en junio de 2006.

Durante los meses de enero y febrero las concentraciones de nitratos en agua de columna se vieron completamente agotadas; su regeneración comienza a fines del otoño hasta alcanzar su recuperación en el invierno.

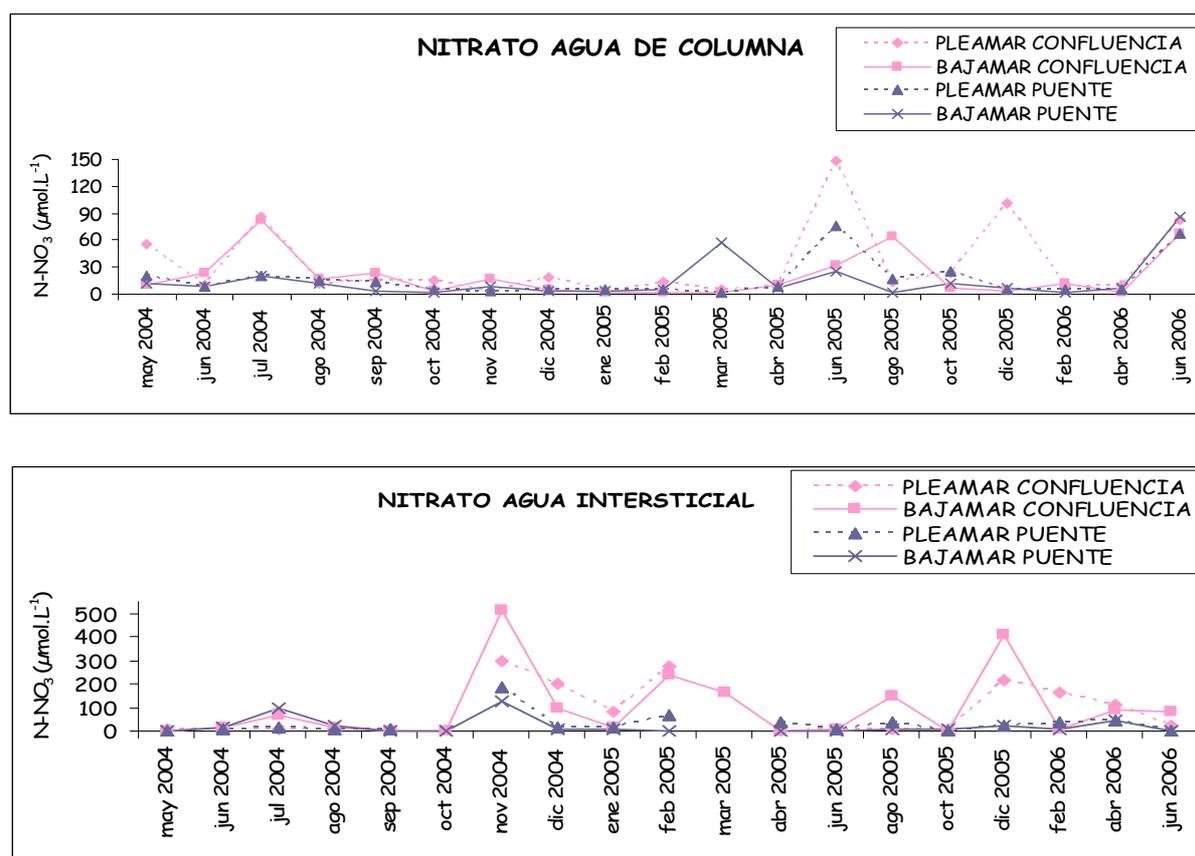


FIGURA I.10. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE NITRATOS EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.2.3- Amonio

Los valores indicados como cero fueron menores al límite de detección del método analítico aplicado ($LD = 0,01 \mu\text{M}$; Treguer y Le Corre, 1975b).

En ambas estaciones la distribución de amonio muestra que las concentraciones encontradas en el agua intersticial fueron hasta de 2 órdenes de magnitud superior con respecto a las encontradas en el agua de columna (Figura I.11).

En la Estación Confluencia las máximas concentraciones de amonio en agua intersticial se encontraron en los meses de octubre de 2004 y 2005 con concentraciones cercanas a los $2500 \mu\text{mol.L}^{-1}$, al igual que en los meses de junio de 2004, 2005 y 2006 con concentraciones entre los $1400 - 2000 \mu\text{mol.L}^{-1}$. También se

observaron picos en los meses de enero-febrero, pero en este caso las concentraciones fueron cercanas a los 700 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. En la Estación Puente la máxima concentración fue de 1539,39 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en el mes de octubre de 2005. También se encontraron concentraciones de alrededor de 900 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en los meses de junio de 2004, 2005 y 2006. Se observó un pico de 828,32 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en el mes de enero de 2005 y otro de 624,19 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en el mes de febrero de 2006.

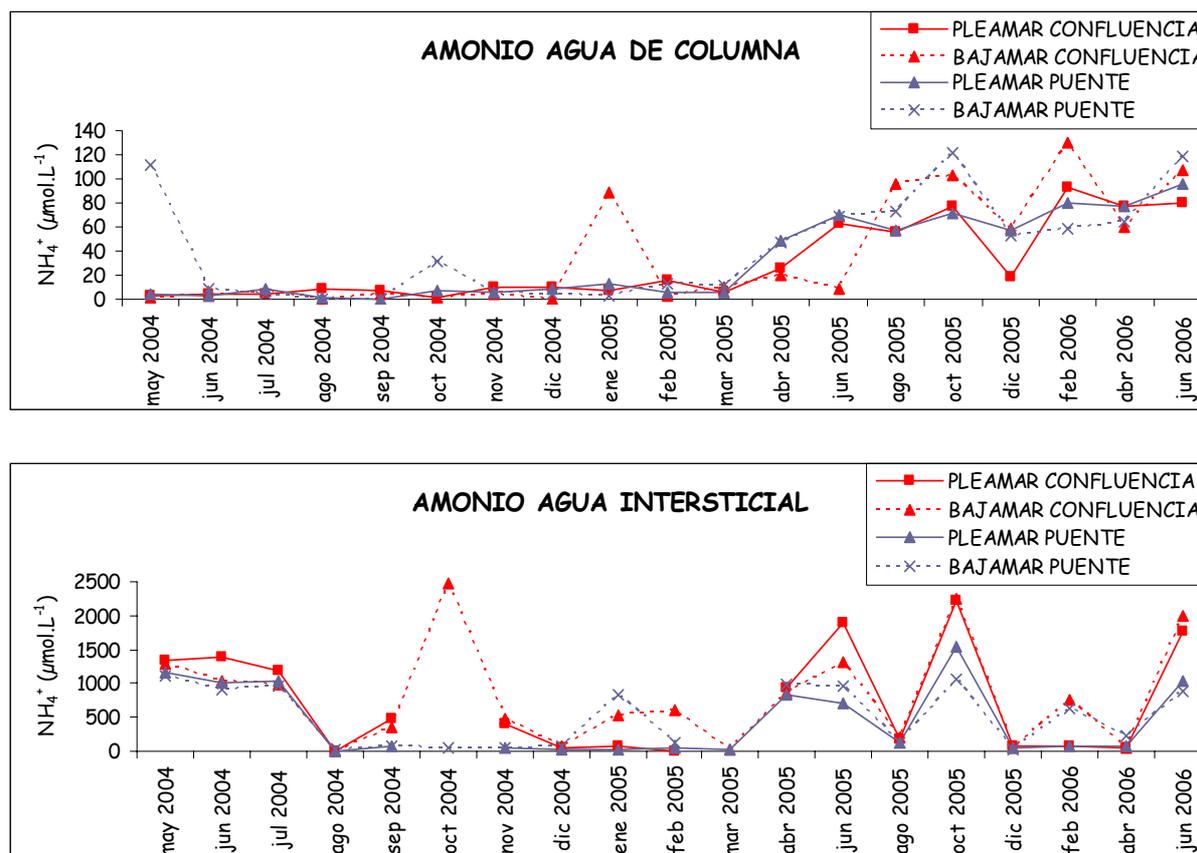


FIGURA I.11. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE AMONIO EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.2.4- Nitrógeno inorgánico disuelto (DIN)

La concentración del Nitrógeno Inorgánico Disuelto (en inglés, DIN) se obtuvo como la sumatoria de las concentraciones de NO_2^- , NO_3^- y NH_4^+ (Figura I.12).

En el agua de columna, las concentraciones halladas durante el segundo año de muestreo fueron significativamente mayores que las del primer año. Las máximas

concentraciones fueron de 212,61 y 207,78 $\mu\text{mol. L}^{-1}$ en los meses de junio de 2005 y 2006. En general, las mayores concentraciones se vieron durante fines del otoño. Durante el primer año de muestreo la mínima concentración de DIN encontrada fue de 3,05 $\mu\text{mol. L}^{-1}$ en septiembre de 2004, con concentraciones similares aunque mayores en los meses de octubre, noviembre y diciembre. Durante el segundo año, las mínimas concentraciones presentes fueron mayores a 40 $\mu\text{mol. L}^{-1}$.

Las concentraciones de DIN en el agua intersticial fueron mayores durante finales del otoño y en el mes de octubre en ambos años. El comportamiento fue similar en ambas estaciones de muestreo. Las máximas concentraciones presentes fueron de 2478,53 y 2252,84 $\mu\text{mol. L}^{-1}$ en los meses de octubre de 2005 y 2006 respectivamente, y de 1890,21 y 2085,14 $\mu\text{mol. L}^{-1}$ durante los meses de junio de 2005 y 2006. En agosto de 2004 se obtuvo la mínima concentración de DIN (21,58 $\mu\text{mol. L}^{-1}$) de todo el período muestreado. Durante el segundo año las mínimas concentraciones fueron siempre mayores a 60 $\mu\text{mol. L}^{-1}$.

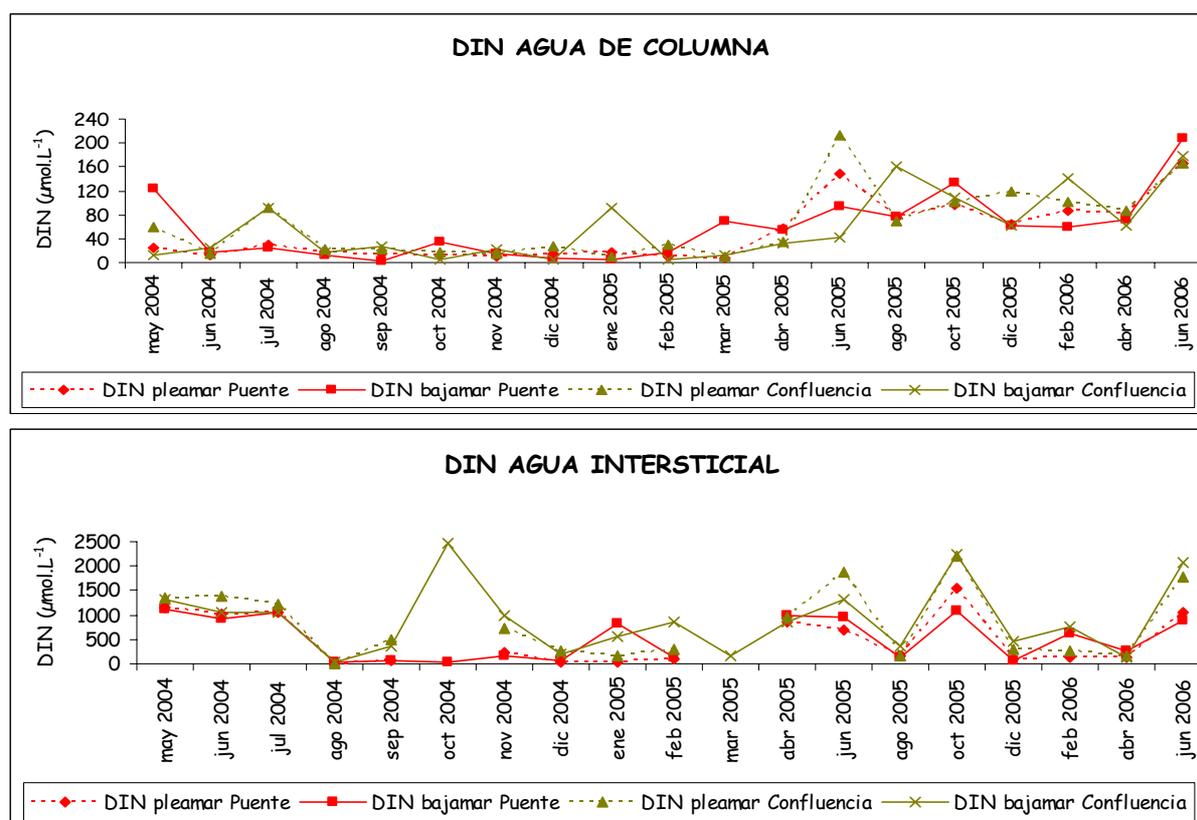


FIGURA I.12. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE NITROGENO INORGANICO DISUELTUO (DIN) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.2.5. - Porcentajes de especies presentes de DIN

En el agua intersticial en ambas estaciones se pudo observar que el NH_4^+ fue la especie dominante del DIN, seguido por el NO_3^- y finalmente el NO_2^- . Durante los meses de verano, los porcentajes de NH_4^+ disminuyen, dominando en algunas ocasiones el NO_3^- (*Figuras I.13 y I.14*). En cambio, en el agua de columna de ambas estaciones se observa una situación inversa. Durante los meses de verano, aumenta el porcentaje de la especie NH_4^+ , mientras que el NO_3^- disminuye. Esto se puede deber a un aporte del NH_4^+ del agua intersticial hacia el agua de columna. Los porcentajes de NO_3^- comienzan a aumentar a fines del otoño y durante el invierno.

En general, en ambas estaciones no se observaron grandes diferencias en las proporciones presentes de cada especie de DIN entre la bajamar y la pleamar.

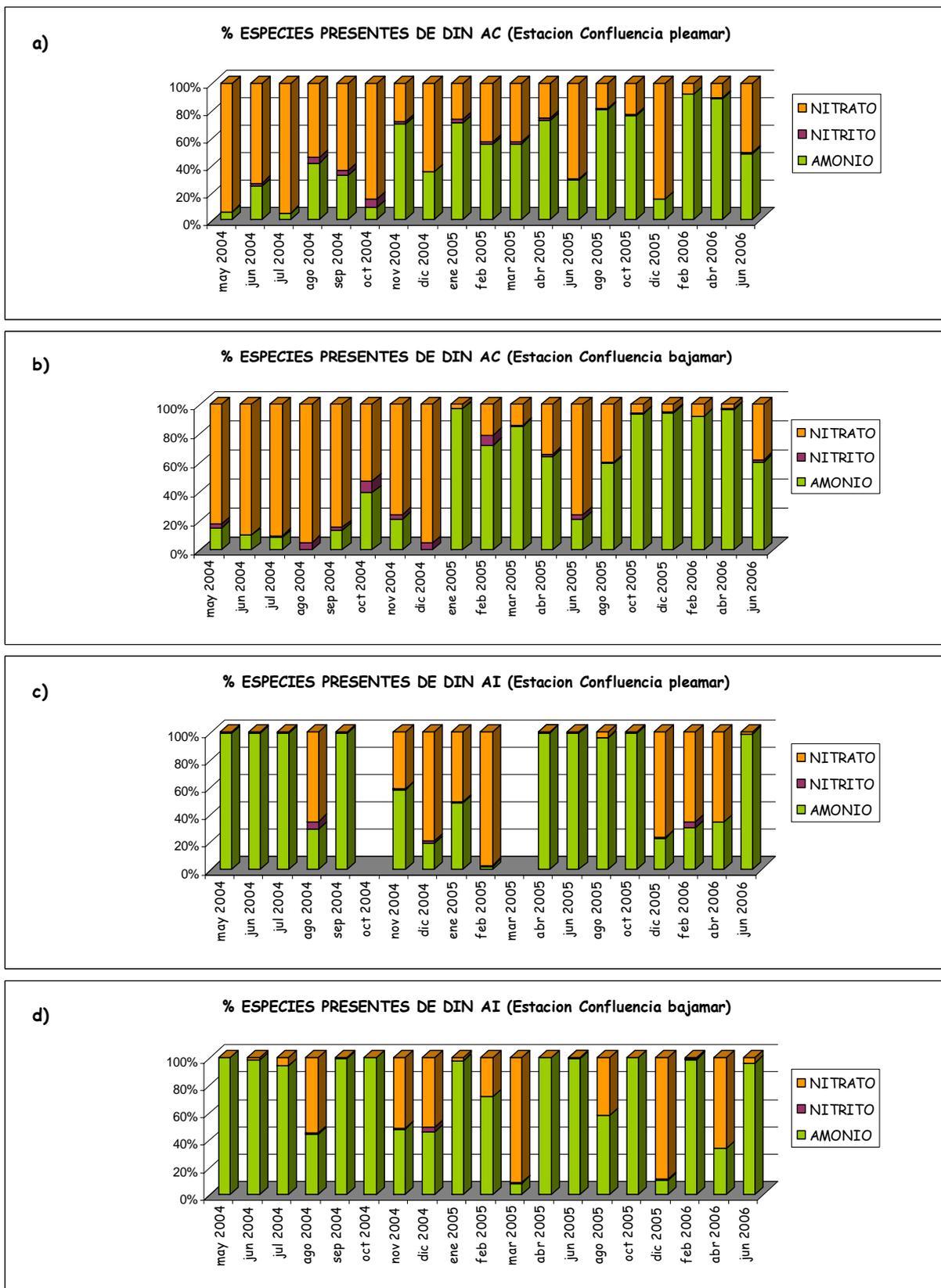


FIGURA I.13. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DEL % DE ESPECIES DE NUTRIENTES PRESENTES DEL NITROGENO INORGANICO DISUELTUO (DIN) EN LA ESTACION DE MUESTREO CONFLUENCIA DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006 EN AGUA DE COLUMNA a) PLEAMAR y b) BAJAMAR, Y EN AGUA INTERSTICIAL c) PLEAMAR Y d) BAJAMAR

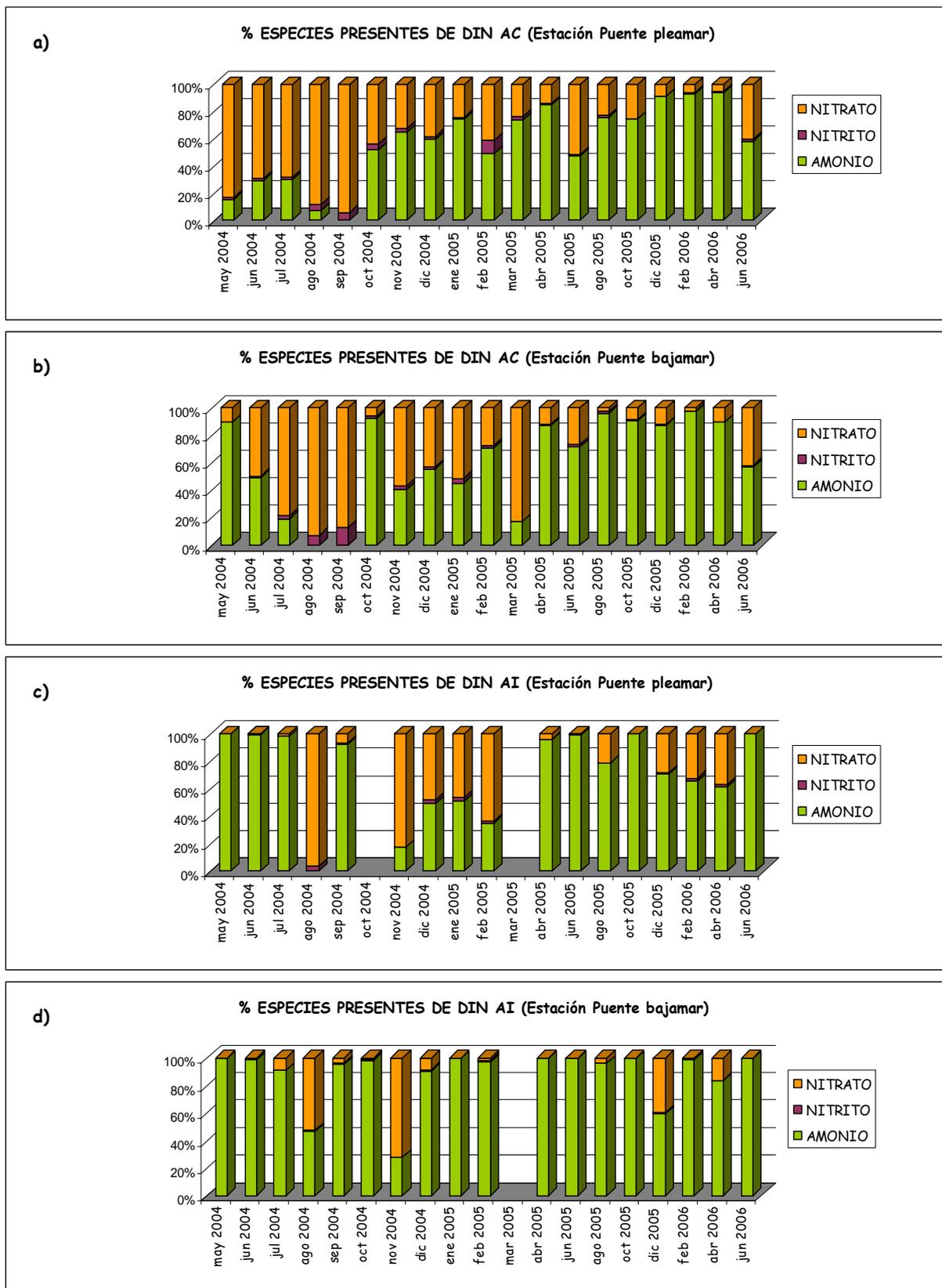


FIGURA I.14. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DEL % DE ESPECIES DE NUTRIENTES PRESENTES DEL NITROGENO INORGANICO DISUELTUO (DIN) EN LA ESTACION DE MUESTREO PUEBLO DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006 EN AGUA DE COLUMNA a) PLEAMAR y b) BAJAMAR, Y EN AGUA INTERSTICIAL c) PLEAMAR Y d) BAJAMAR

I.3.2.6- Fósforo Inorgánico Disuelto (DIP)

La concentración de Fósforo Inorgánico Disuelto (en inglés, DIP) es la concentración total de PO_4^{3-} presentes en la muestra.

Las concentraciones de fosfatos en agua de columna en ambas Estaciones de muestreo fueron altas, con máximas concentraciones en los meses de mayo y julio de 2004 en bajamar en la Estación Confluencia con valores de 12,67 y 10,78 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ respectivamente y en julio de 2004 durante la pleamar donde se registró una concentración de 18,71 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (*Figura I.15*). Otros máximos de concentración, aunque menores a los anteriores, se registraron en los meses de junio de 2005 y de 2006. Otro pico de 8,25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ se registró en la Estación Puente en febrero de 2006.

Con respecto a las concentraciones encontradas en el agua intersticial, las concentraciones observadas fueron de un orden de magnitud mayor a las encontradas en el agua de columna. En ambas estaciones se encontraron varios picos de concentración a lo largo del período de muestreo, con una concentración máxima en la Estación Puente de 136,13 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en junio de 2004 y en la Estación Confluencia la concentración máxima fue de 141,71 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en junio de 2004 durante la bajamar y de 234,87 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en junio de 2006 durante la pleamar. No se observaron grandes diferencias con respecto a los distintos estados de mareas.

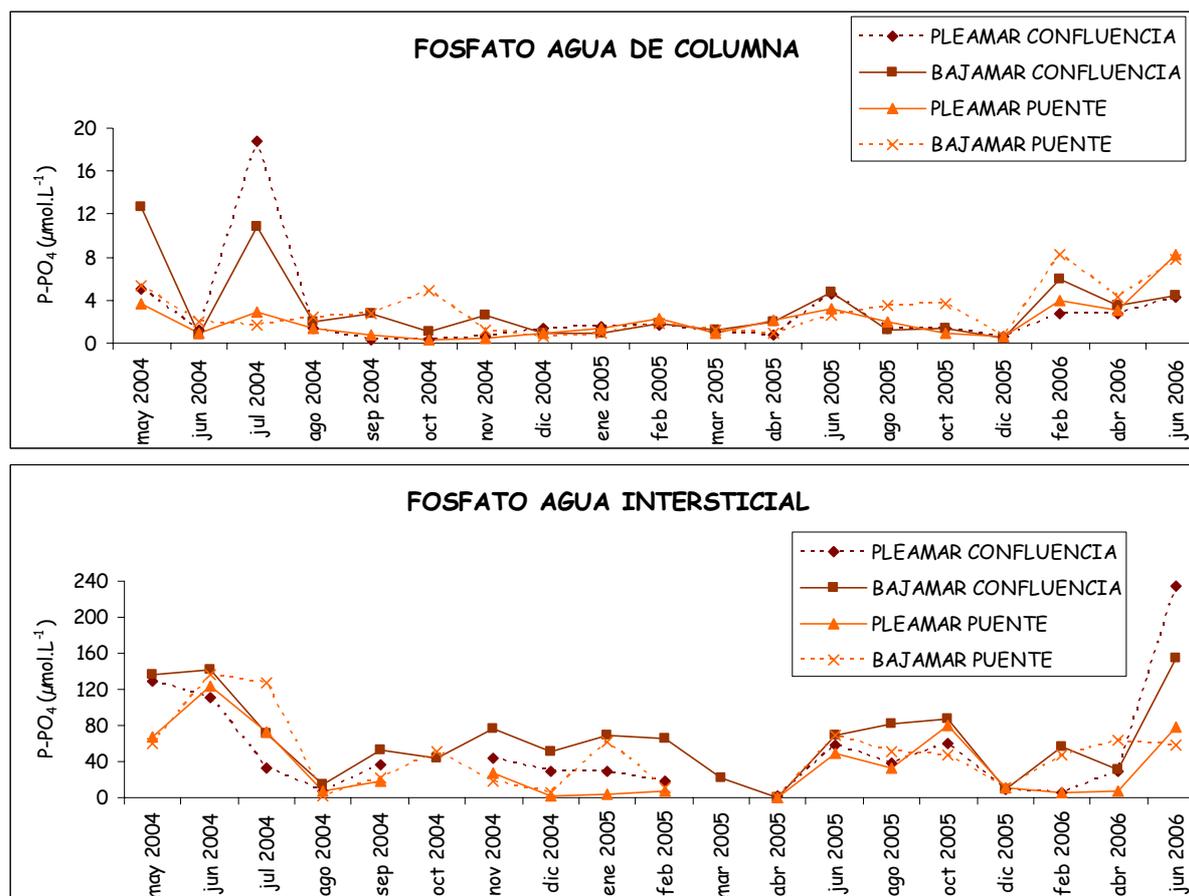


FIGURA I.15. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE FOSFATOS EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.2.7- Silicatos

La distribución de las concentraciones de silicatos en agua de columna en ambas Estaciones de muestreo mostró un comportamiento similar, siendo las concentraciones más elevadas las de los meses de otoño, invierno y primavera. Durante el verano y comienzos del otoño las concentraciones de silicatos disminuyeron significativamente, con valores entre los 10 - 40 µmol.L⁻¹ (Figura I.16). Las máximas concentraciones presentes fueron de 880 µmol.L⁻¹ en el mes de julio de 2004, con altas concentraciones también durante los meses de mayo, junio, agosto, septiembre, octubre y noviembre. Durante el segundo año de muestreo las máximas concentraciones encontradas fueron menores a las del primer año.

Las concentraciones encontradas en el agua intersticial fueron mayores a las del agua de columna. Pero en este caso no se observó ninguna tendencia definida comportamiento temporal del silicato. En la Estación Confluencia la máxima concentración observada fue de 1177,66 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ durante el mes de noviembre de 2004 en el agua intersticial. En la Estación Puente la máxima concentración observada fue de 1026,42 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en septiembre de 2004 durante la bajamar y de 1016,8 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ en julio de 2004 durante la pleamar.

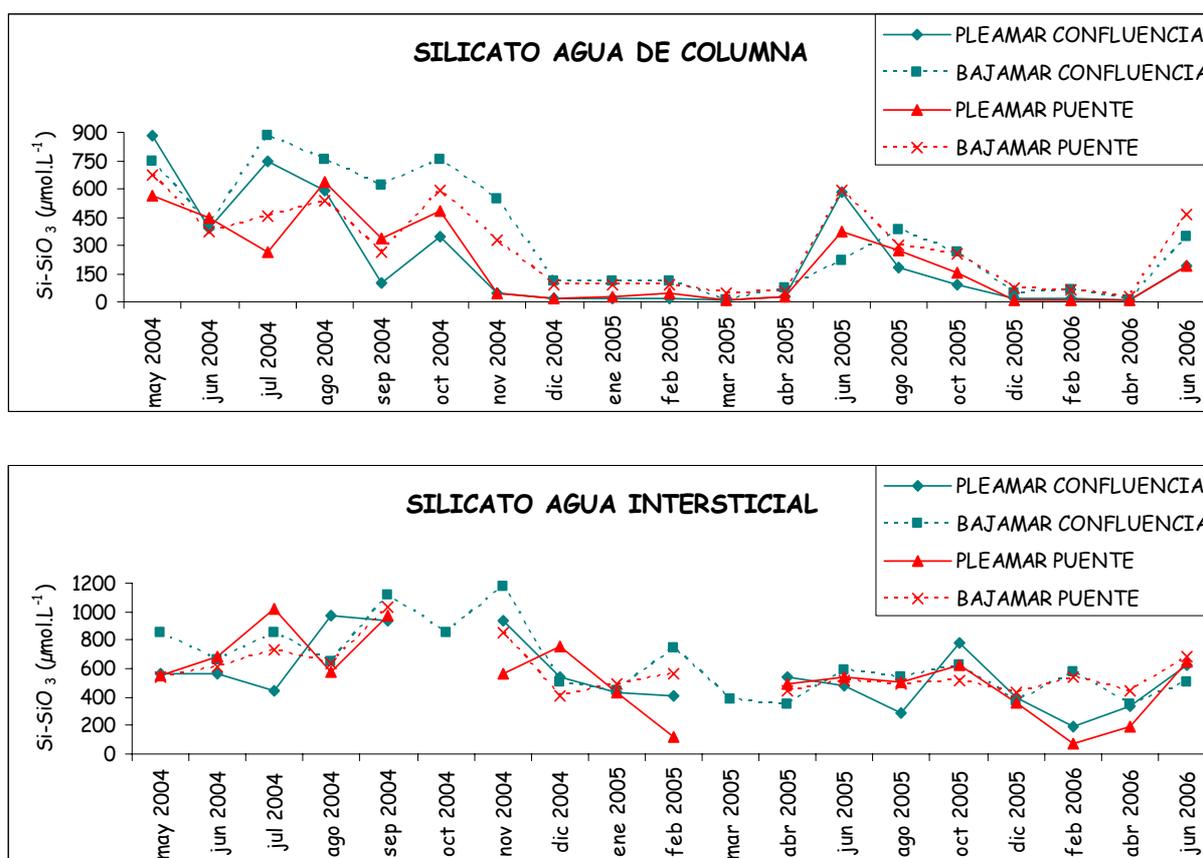


FIGURA I.16. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE SILICATOS EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

1.3.2.8.- Relaciones entre nutrientes

-DIN:DIP

Los valores de DIN:DIP en ambas estaciones de muestreo fueron muy fluctuantes (*Figuras I.17 y I.18*). En la Estación Confluencia los valores estuvieron dentro de un rango de ($\sim 1 - 148$) durante la bajamar y de ($\sim 5 - 198$) durante la pleamar. En la Estación Puente los valores fueron de ($\sim 1 - 111$) durante la bajamar y de ($\sim 5 - 115$) durante la pleamar. En ambas estaciones, durante el segundo año de muestreo los valores fueron en todos los casos >16 , debido a que las concentraciones de DIN fueron altas en todo momento. En la Estación Confluencia, durante el primer año los valores entre bajamar y pleamar fueron muy variados. Así, mientras que en la pleamar los valores estuvieron algunas veces por encima de 16 y otras por debajo, durante la bajamar estuvieron en general por debajo. En la Estación Puente los valores durante bajamar y pleamar también fueron muy variados, pero en general, en esta estación durante el primer año los valores estuvieron por debajo de 16.

No se observó ninguna tendencia definida en el comportamiento estacional ni con las condiciones de marea.

- DIN: DSi

Los valores de DIN: DSi en ambas estaciones variaron a lo largo del año (*Figuras I.19 y I.20*). En la Estación Confluencia los valores fluctuaron entre 0,006 - 9,24 y en la Estación Puente variaron entre 0,02 - 10,13. Durante casi todo el año los valores fueron <1 , pero durante los meses de verano y principios de otoño se observaron valores >1 , con un máximo de 9,24 durante la pleamar en el mes de abril del 2006 en la Estación confluencia y de 10,13 en la Estación Puente. Cuando los valores fueron >1 , los valores durante la pleamar fueron mayores que durante la bajamar.

- DSi:DIP

Los valores de DSi:DIP en ambas estaciones variaron a lo largo del año dentro de un amplio rango de valores. En la Estación Confluencia los valores estuvieron entre 3 - 1327 y en la Estación Puente fueron de 3,36 - 1303. En las dos estaciones el

comportamiento fue similar, con valores >1 y altos durante la mayor parte del año. Durante los meses de verano y principios de otoño se observaron valores <1.

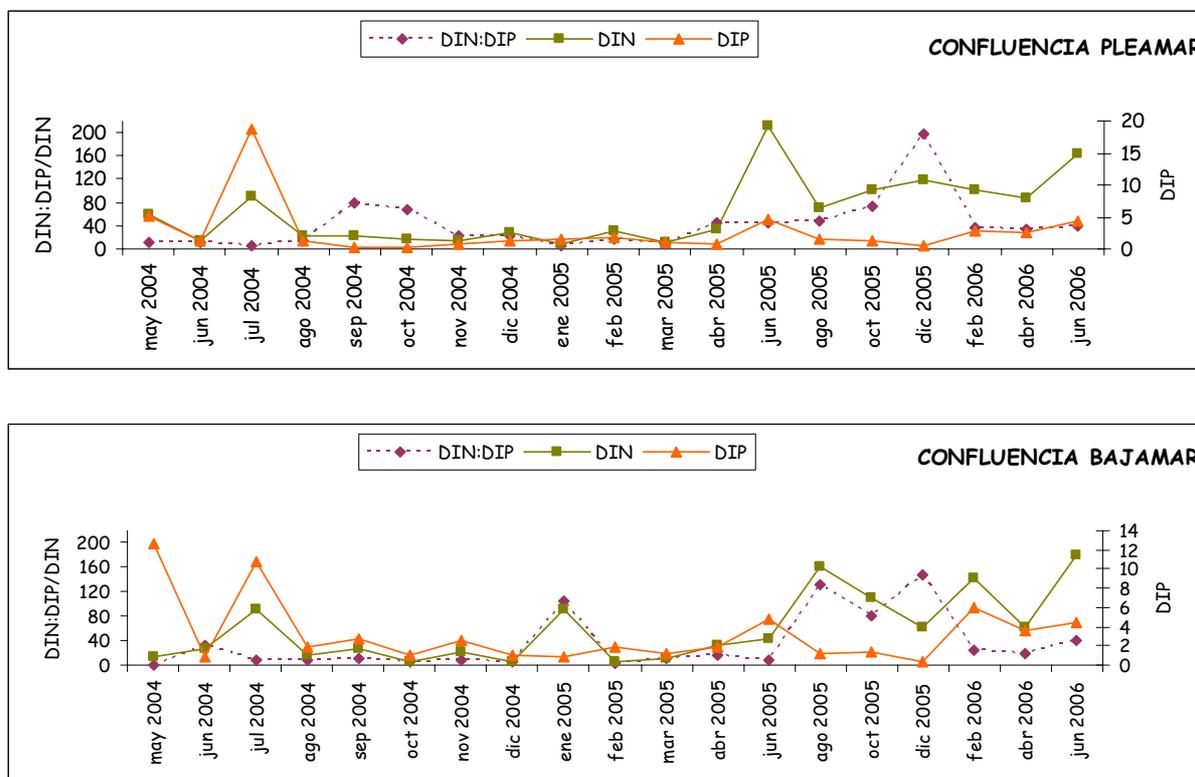


FIGURA 1.17. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE DIN:DIP EN AGUA DE COLUMNA EN LA ESTACION DE MUESTREO CONFLUENCIA DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

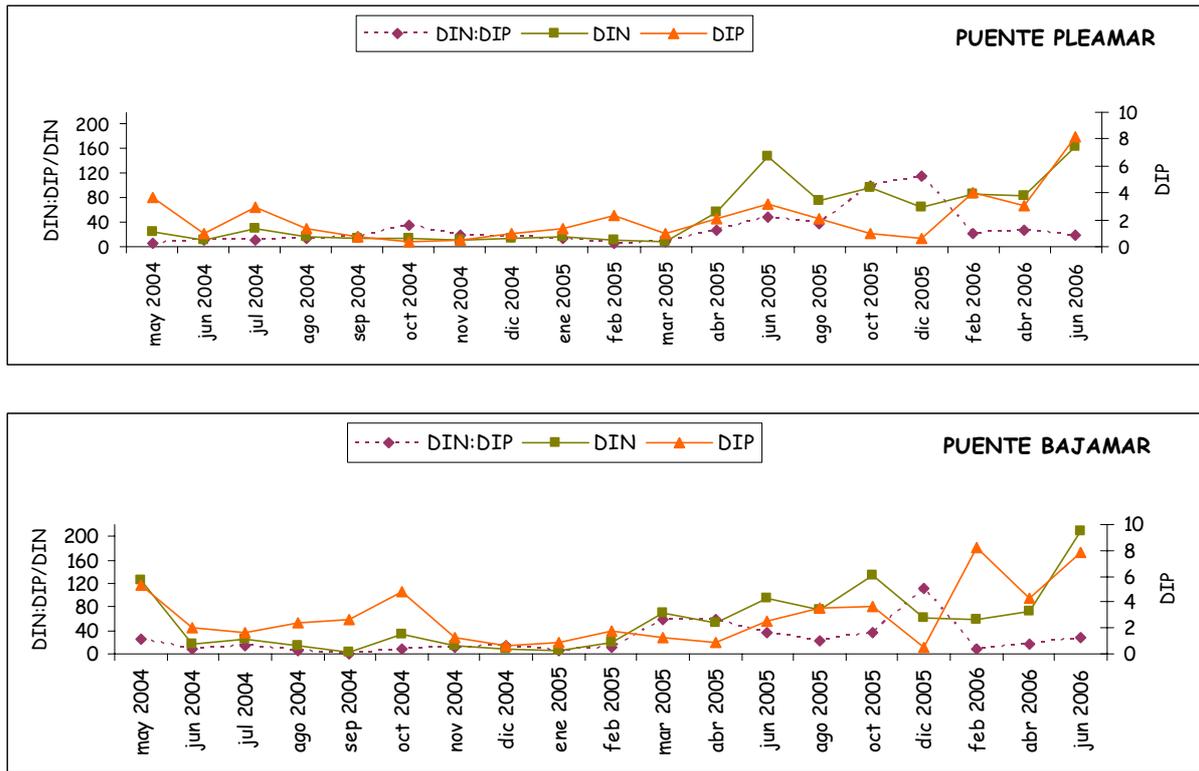


FIGURA 1.18. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE DIN:DIP EN AGUA DE COLUMNA EN LA ESTACION DE MUESTREO PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

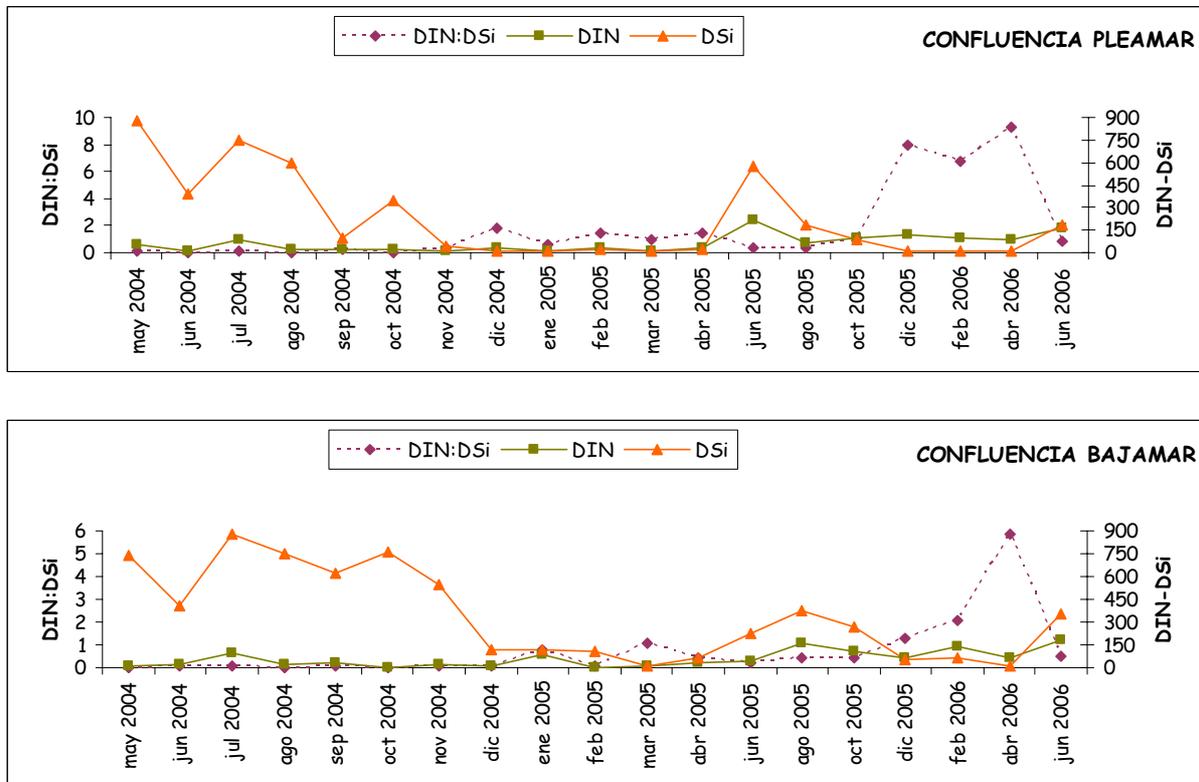


FIGURA 1.19. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE DIN:DSi EN AGUA DE COLUMNA EN LA ESTACION DE MUESTREO CONFLUENCIA DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

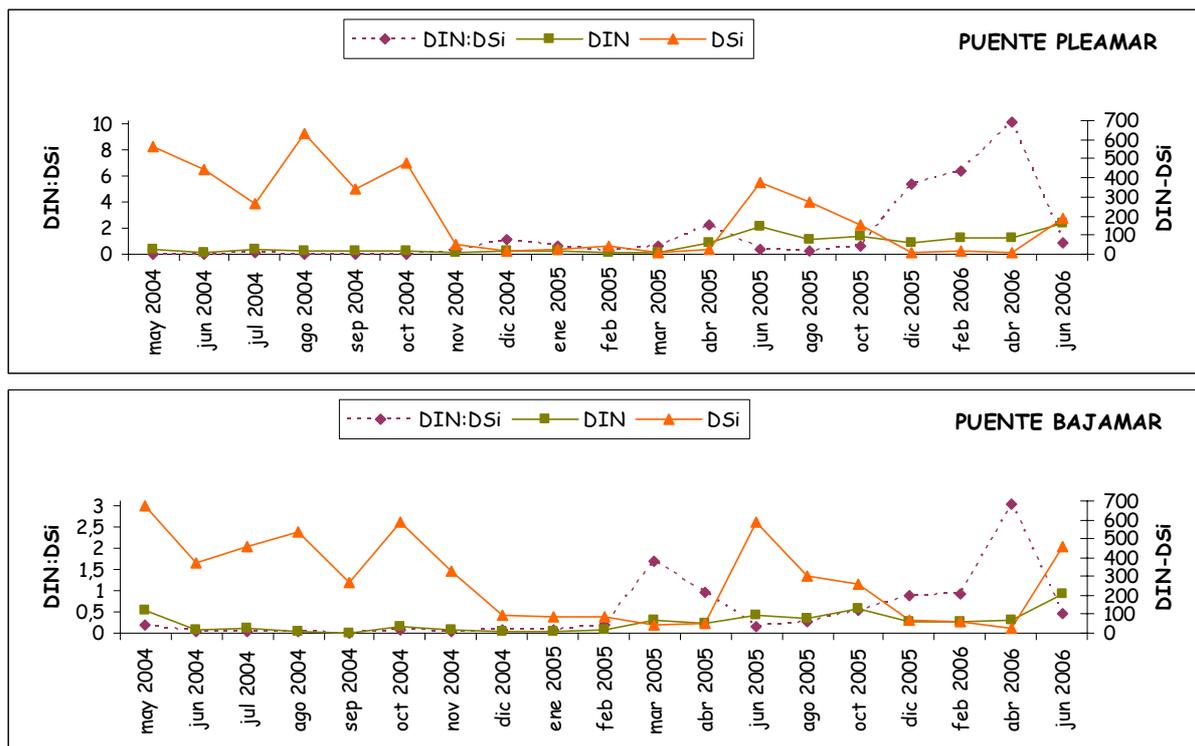


FIGURA I.20. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE DIN:DSi EN AGUA DE COLUMNA EN LA ESTACION DE MUESTREO PUEBLO DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

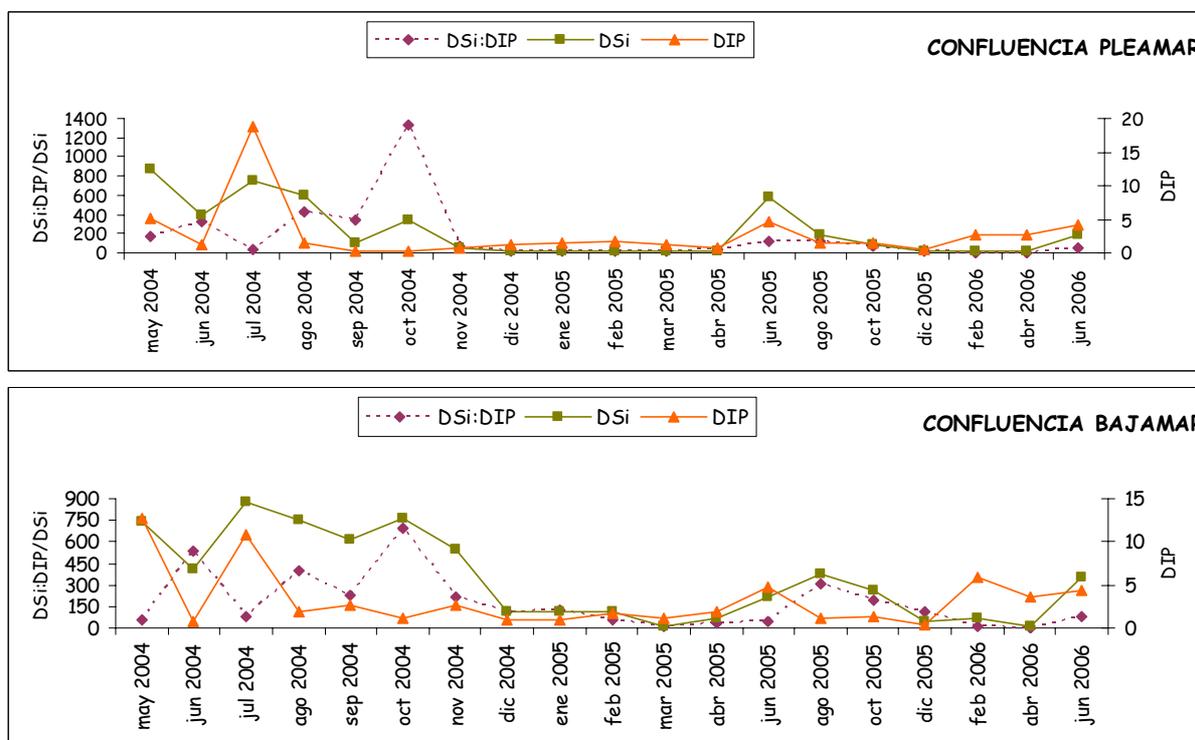


FIGURA I.21. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE DSi:DIP EN AGUA DE COLUMNA EN LA ESTACION DE MUESTREO CONFLUENCIA DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

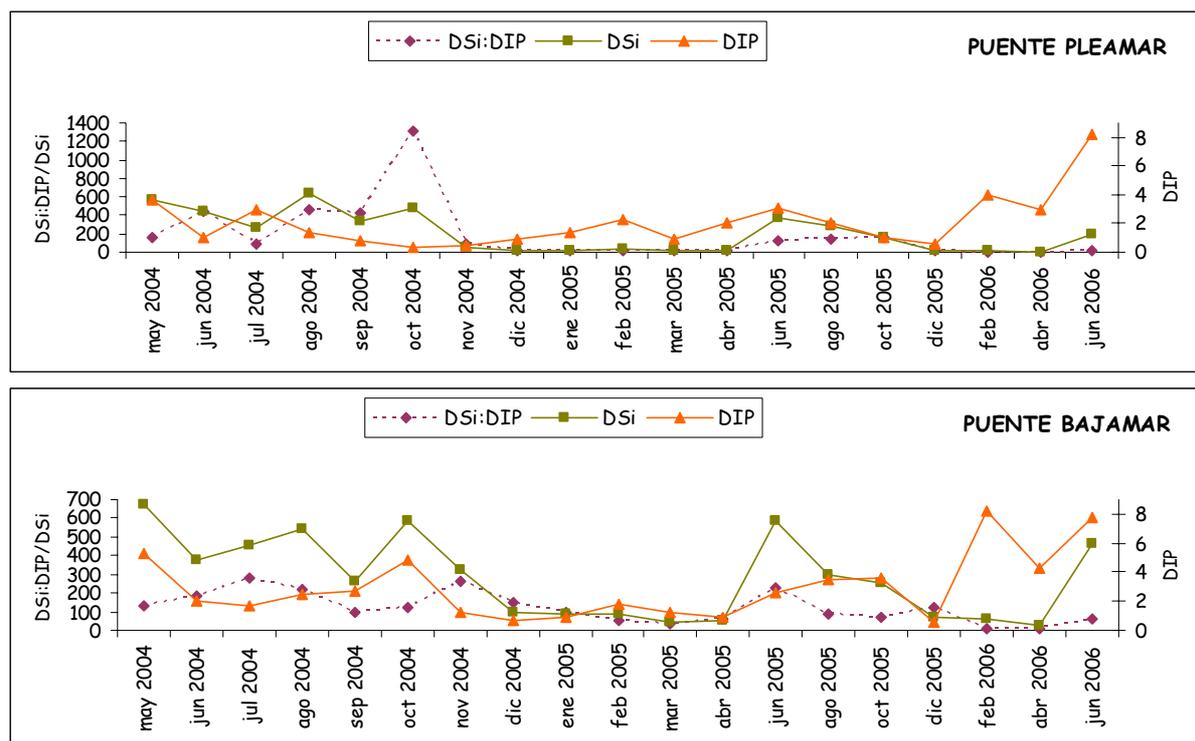


FIGURA 1.22. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE DSi:DIP EN AGUA DE COLUMNA EN LA ESTACION DE MUESTREO PUENTE DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

1.3.3- Materia orgánica particulada (MOP)

En ambas estaciones de muestreo la concentración de MOP fue elevada. Los mayores valores se presentaron a fines de invierno y en la primavera (Figura 1.23). En la Estación Puente, los valores de MOP en agua de columna a lo largo de todo el muestreo variaron entre 283 - 5802 mg.L⁻¹. En el agua intersticial los valores fueron generalmente menores, a excepción del mes de noviembre de 2004 cuando se registró durante la bajamar un valor de 8811 mg.L⁻¹. En la Estación Confluencia los valores fueron menores (138 - 4276 mg.L⁻¹), registrándose también valores más elevados en el agua de columna y menores en el agua intersticial.

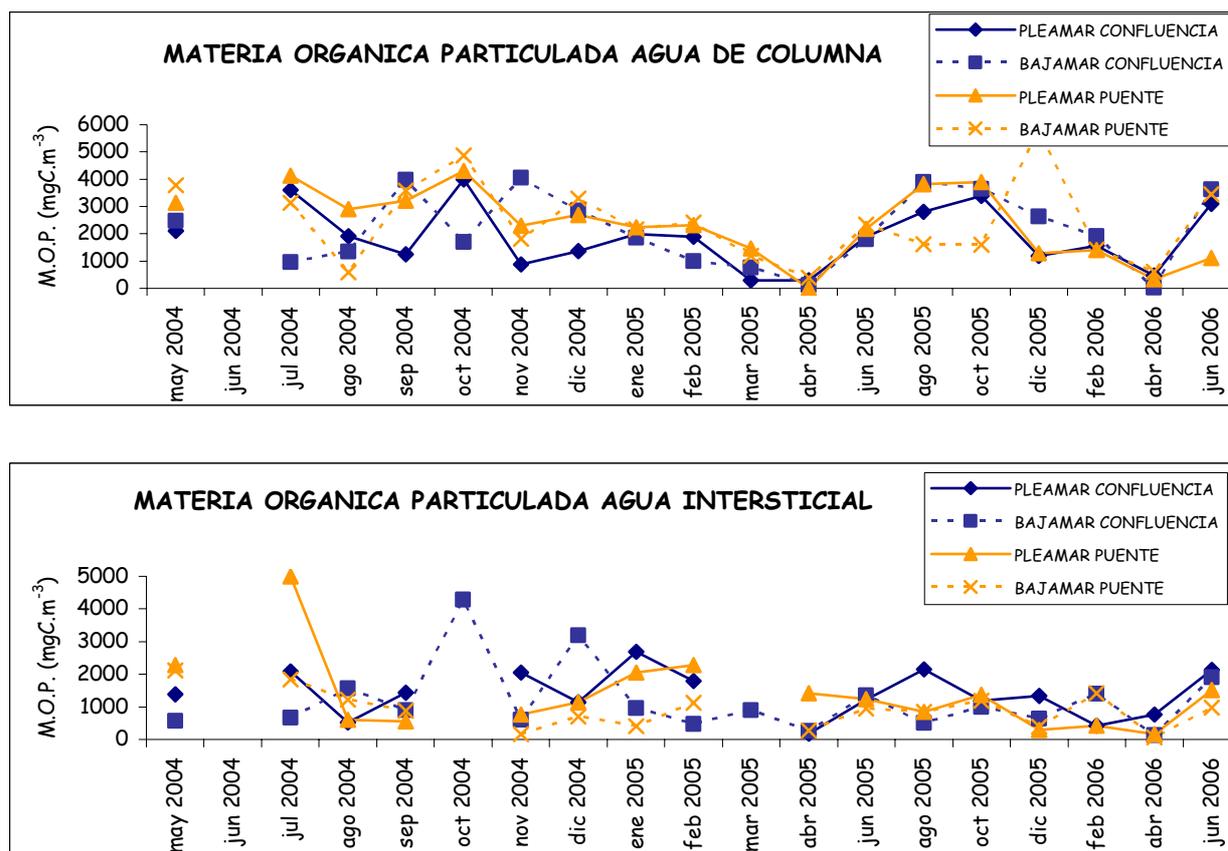


FIGURA I.23. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE MATERIA ORGÁNICA PARTICULADA EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.3.4- Clorofila *a* y feopigmentos

Los valores de clorofila *a* encontrados durante el período de estudio fueron generalmente elevados. En la Estación Puente se registraron 4 picos importantes de Clorofila *a* (Figura I.24). El primero se registró en el mes de mayo de 2004, con una concentración de $52,71 \mu\text{g.L}^{-1}$ notable sólo durante la bajamar, el segundo pico tuvo un máximo en el mes de octubre de 2004 y se presentó tanto en la bajamar como en la pleamar, ($76,47$ y $44,42 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente). El tercer pico observado fue sólo en la pleamar en el mes de agosto de 2005, con una concentración de $61,48 \mu\text{g.L}^{-1}$, y el último se presentó en los meses de octubre-diciembre de 2005 con un máximo de $42,25 \mu\text{g.L}^{-1}$. Las menores concentraciones se encontraron a fines del verano y principios de otoño. También se registró un aumento en la

concentración durante los meses de enero y febrero de ambos años de estudio, aunque estos picos fueron inferiores a los mencionados anteriormente. En la Estación Confluencia, también se observaron cuatro picos importantes, y los valores registrados a lo largo del período de muestreo fueron inferiores a los registrados en la Estación Puente. El primer pico se registró en el mes de junio del 2004, con una concentración de $26 \mu\text{g.L}^{-1}$, sólo presente en la pleamar. El segundo pico fue de $42,43 \mu\text{g.L}^{-1}$, en el mes de octubre del 2004 también presente sólo en la pleamar. El tercer pico fue de una concentración de $30,84 \mu\text{g.L}^{-1}$, durante la bajamar del mes de noviembre del 2004. El cuarto pico se observó en el mes de agosto del 2005 durante la pleamar y la bajamar ($63,96$ y $28,51 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente). También se observó un leve aumento en la concentración de Clorofila *a* durante el mes de febrero de ambos años.

En ninguna de las estaciones se observó un efecto del estado de las mareas sobre las concentraciones de este pigmento. En síntesis, los meses con mayores concentraciones de clorofila *a* se encuentran durante la primavera. También se registraron picos de concentración, aunque menores, durante algunos meses de invierno y verano. Las menores concentraciones se encontraron en el mes de abril en ambos años de muestreo. Sin embargo, durante todo el año se registraron concentraciones altas de clorofila *a*.

La distribución de feopigmentos (o pigmentos de degradación) en la Estación Puente mostró dos importantes picos durante los meses de octubre de 2004 y octubre-diciembre de 2005 de $31,42$ y $30,15 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente (*Figura I.24*). Otro tercer pico menor de $15,25 \mu\text{g.L}^{-1}$ se presentó en diciembre de 2004. En general, las concentraciones de feopigmentos fueron mayores durante la bajamar, aunque en el mes de octubre de 2005 también se registró un pico de concentración de $26,16 \mu\text{g.L}^{-1}$ durante la pleamar. En la Estación Confluencia se observaron picos de concentración durante los meses de julio y diciembre de 2004 y octubre-diciembre de 2005. La máxima concentración observada durante la bajamar fue de $47,34 \mu\text{g.L}^{-1}$ y durante la pleamar de $28,89 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Finalmente, la distribución de feopigmentos siguió una distribución esperada, ya que las mayores concentraciones encontradas se presentaron simultáneamente o

luego de observarse los picos de máxima concentración de Clorofila *a*, reflejando así el grado de asociación con la clorofila *a* y de envejecimiento de las poblaciones fitoplanctónicas.

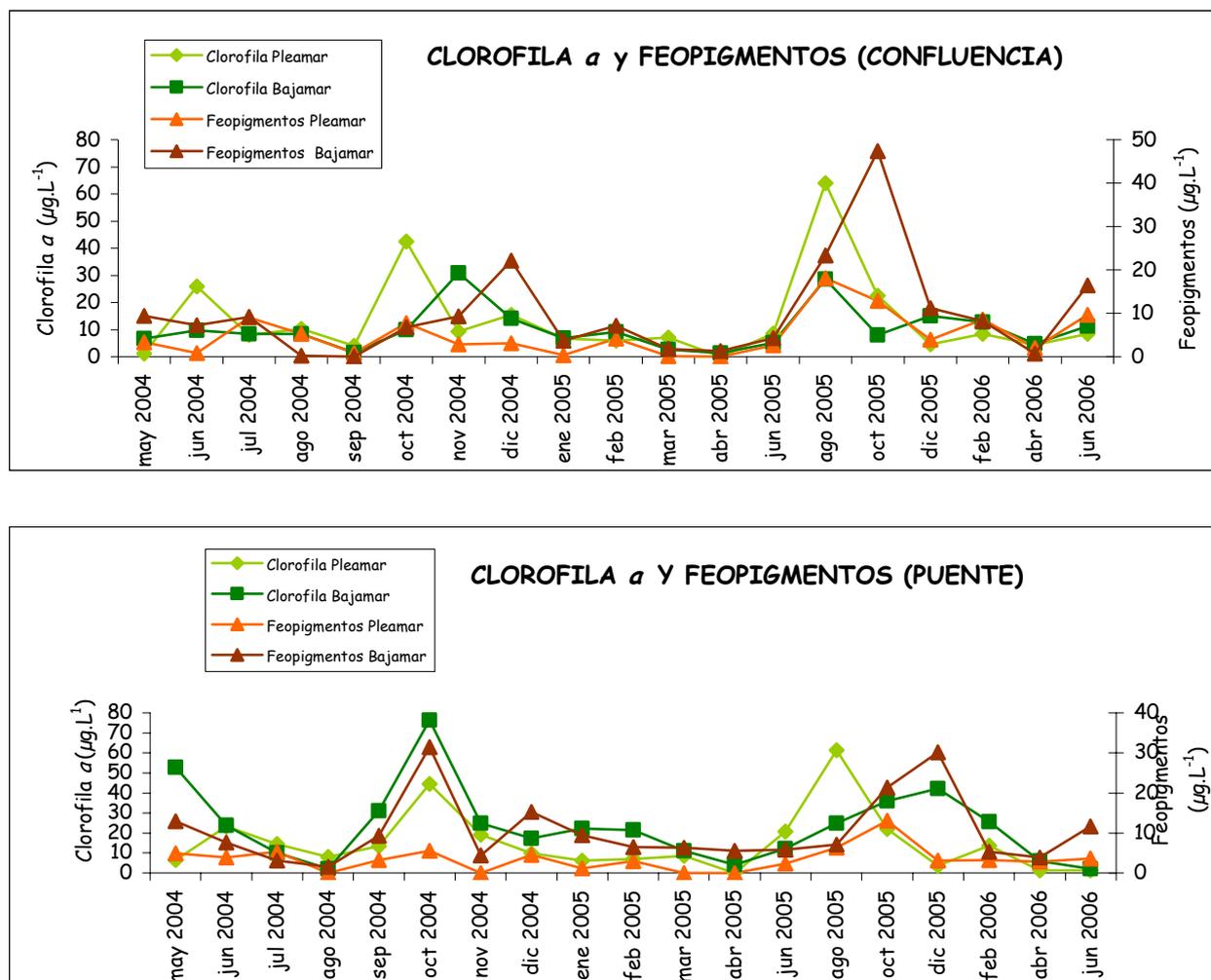


FIGURA I.24. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE CLOROFILA *a* Y FEOPIGMENTOS EN AGUA DE COLUMNA EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO PUENTE Y CONFLUENCIA DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004 - JUNIO 2006.

I.4- DISCUSIÓN

La distribución espacial y temporal de las variables físico-químicas estudiadas permite caracterizar a las planicies de marea de la laguna costera Mar Chiquita como ambientes altamente heterogéneos; donde el efecto de las mareas, las precipitaciones, las temperaturas del aire y los aportes continentales (entre otros) producen cambios altamente notables en estos parámetros.

A partir de los valores de *precipitaciones* registrados es posible concluir que los meses más secos son los del otoño. En cambio, las mayores precipitaciones se registran durante las estaciones de invierno y verano. Esto es característico de las zonas templadas y trae aparejado un mayor lavado continental durante estas estaciones del año lo cual puede influir en la dinámica de los nutrientes. En esta laguna costera el aumento del drenaje continental se vio reflejado en un mayor aporte de nutrientes hacia este ambiente (Marcovecchio *et al.*, 2006).

Con respecto a la *temperatura* superficial del agua es posible apreciar que los resultados mostraron la típica distribución sinusoidal característica de ambientes estuariales templados (Freije y Marcovecchio, 2004). Esta laguna es un cuerpo de agua somero, por lo que la temperatura de sus aguas está fuertemente influenciada por la temperatura del aire con el que interactúa. Se observa que en la Estación Puente los registros son mayores durante los meses cálidos y menores durante los meses fríos con respecto a la Estación Confluencia. Esto podría deberse a que en la Estación Confluencia el volumen de agua es mayor que en la Estación Puente, lo que permitiría una mejor regulación de la temperatura. El patrón de distribución a lo largo del año en ambas estaciones y el valor medio anual son similares. Tanto la poca profundidad del sistema como los débiles movimientos del agua debidos a la baja influencia de las mareas contribuye con las altas temperaturas registradas durante el verano, siendo estas características aún más pronunciadas en la Estación Puente.

Los valores registrados durante estos dos años de estudio fueron mayores a los oportunamente registrados por Olivier *et al.* (1972) y Fasano *et al.* (1982), mientras que fueron similares a los informados por De Marco (2002) y Marcovecchio *et al.* (2006) para el período 1994-1995. Esto podría estar relacionada con la reducción de la

profundidad de la columna de agua que ha sufrido la laguna a partir de la construcción del Puente de Celpa en los años 70 y por el desarrollo de “bochones” de poliquetos que han incrementado el ritmo de sedimentación de los últimos años (Isla y Gaido, 2001) aumentando de esta forma la influencia de procesos de radiación solar y convección en el sistema.

Los valores de *salinidad* también mostraron grandes variaciones a lo largo del período de estudio tanto espacial como temporalmente. Con respecto a los valores de salinidad presentes en la Estación Puente, en algunas ocasiones estuvieron influenciados por el régimen de mareas tal como un sistema costero, pero en otras ocasiones mostraron un comportamiento contrario, con valores de salinidad mayores durante las bajamares y menores durante las pleamares. Esto indicaría que la salinidad en este lugar está relacionada con la magnitud del ingreso de aguas oceánicas y los aportes continentales, como ha sido informado por Reta *et al.*, 2001.

Marcovecchio *et al.*, 2006 han definido dos subsistemas diferentes dentro de esta laguna costera:

- 1) un subsistema marino costero, que parece estar regulado por el régimen de mareas, con valores de salinidad típicos de una laguna costera, como es la Estación Confluencia.

- 2) un subsistema oligohalino, que depende completamente del ingreso de aguas continentales.

En la Estación Confluencia el patrón de salinidad que se observa coincide con el de los sistemas marinos costeros influenciados por el régimen de mareas, con un aumento de salinidad durante las pleamares y un descenso durante las bajamares. Por su parte, la Estación Puente posee un patrón de salinidad particular, ya que si bien las salinidades encontradas fueron muy variables, con valores en general mayores a las salinidades de las aguas continentales, el comportamiento de ésta no estuvo relacionado con los ciclos de las mareas.

En ambas estaciones de muestreo se registraron abruptos descensos de salinidad. Las lluvias extraordinarias que suelen ocurrir dentro de la cuenca de drenaje modifican notoriamente los valores de la salinidad. En estos casos, el efecto de los aportes de aguas continentales fue mucho mayor al efecto del ingreso del agua

de mar, ya que la salinidad se vio reducida tanto en bajamar como en pleamar. Estos grandes descensos en la salinidad no se presentaron en verano, aún cuando en esa época del año también se registran fuertes precipitaciones. Por el contrario, fueron los meses más cálidos los que presentaron las mayores salinidades. Esto indicaría que el efecto de la evaporación de las aguas someras de la laguna debido a las altas temperaturas es mayor que el efecto de los aportes continentales o que en verano, las lluvias son retenidas en los suelos secos de su cuenca de drenaje. En cambio en el invierno, cuando no se produce el efecto de evaporación, el aumento de los aportes continentales debido a las precipitaciones produce un notorio cambio.

Las tendencias de la distribución de salinidad a lo largo del período de estudio mostraron ser significativamente dependientes de condiciones meteorológicas (precipitaciones y temperatura) así como de condiciones hidrográficas (mareas, efectos de mezcla de aguas, etc) y geomorfológicas.

El *pH* mostró una gran homogeneidad a lo largo de los 2 años de estudio en ambas estaciones de muestreo, y los valores en los dos sitios fueron muy similares. Éstos concuerdan con los valores registrados previamente por De Marco (2002), y Marcovecchio *et al.* 2006. Si bien los valores de *pH* son muy similares, los valores extremos registrados a lo largo del período de estudio difieren en 3 unidades de *pH* en la Estación Puente y en 2 unidades en la Estación Confluencia. En general, en ambas estaciones el rango de variación del *pH* durante el período de estudio fue amplio, a pesar que en ningún caso se registraron valores críticos. Sin embargo, estos amplios rangos de *pH* pueden llegar a ocasionar importantes cambios fisiológicos en la biota de esta laguna, así como también importantes cambios en los procesos químicos que se llevan a cabo en este ambiente.

En ambas estaciones, el comportamiento del *oxígeno disuelto* no muestra una marcada variación estacional, aunque se puede notar un pequeño aumento durante fines de otoño y comienzo del invierno en la Estación Confluencia. Esto indicaría el aporte de oxígeno al agua por procesos de fotosíntesis debido a que la mayor concentración de clorofila *a* se observó en ese período, junto con las menores temperaturas registradas en el agua, lo cual favorece a una mayor disolución de oxígeno. En la Estación Puente este efecto no es notorio, y se observa

una marcada diferencia de concentración entre pleamar y bajamar para un mismo ciclo de marea, lo que sugiere también una mayor influencia en cuanto a los aportes continentales o marinos. En este mismo sitio se registraron valores de hipoxia severa ($< 4 \text{ mg.L}^{-1}$) de $1,93 \text{ mg/L}^{-1}$. En cambio, en la Estación Confluencia los valores de concentración de oxígeno fueron en general altos, y los correspondientes valores de las concentraciones en pleamar y bajamar en un mismo ciclo de marea fueron similares. En general, los resultados muestran que el sistema no presenta deficiencia de oxígeno, ya que en ambientes costeros o estuariales se consideran valores de “hipoxia severa” a aquellos $< 4 \text{ mg.L}^{-1}$ o menores al “nivel mínimo aceptable” a los $< 2 \text{ mg.L}^{-1}$ (Windsor, 1985). La hipoxia o anoxia es considerada uno de los principales estresantes de la biota acuática en estos ambientes.

La *turbidez* registrada en ambos sitios de estudio fue elevada, y con una distribución variable temporalmente. Los rangos fueron de 17 – 385 UNT en la Estación Puente y de 15,5 – 260 UNT en la Estación Puente. En general, los valores de turbidez en ambas estaciones durante un mismo ciclo de marea fueron similares, y en unas pocas ocasiones, los valores fueron mayores durante la bajamar. Estos resultados, junto con los altos valores de turbidez registrados durante todo el período de estudio, reflejan un gran efecto de la resuspensión de sedimentos en las aguas someras de esta laguna, el cual en general no se ve alterado por las aguas que ingresan durante la pleamar. Esto puede deberse a que el efecto de dilución que puede producir el ingreso de agua marina no es lo suficientemente grande o que las corrientes que genera este ingreso puede producir una mayor resuspensión de sedimentos.

Los nutrientes presentaron concentraciones y dinámicas diferentes. Las concentraciones de **nitritos** en ambas estaciones de muestreo se comportaron de manera similar y con valores semejantes que rondaron entre aproximadamente $0,1-2,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, con la excepción de algunos picos máximos presentes en el agua intersticial de la Estación Confluencia de hasta $12,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$. En ningún caso mostraron grandes diferencias entre las bajamares y pleamares. En el agua intersticial se observó un aumento de nitritos durante los meses de verano, mientras que en el agua de columna se observaron aumentos tanto en los meses de verano como en los de invierno.

El comportamiento de los **nitratos** fue diferente en el agua de columna de la de intersticial. En el agua de columna, las concentraciones aumentan hacia fines del otoño y comienzos del invierno, con un leve aumento a comienzos del verano. Además, en algunas ocasiones se observan grandes diferencias de concentraciones con las mareas. En el agua intersticial los valores fueron muy oscilantes durante todo el período, aunque las máximas concentraciones siempre se presentaron durante el verano. Si bien los valores presentes tanto en agua de columna como en la intersticial fueron similares, las máximas concentraciones presentes fueron de hasta tres veces mayores en el agua intersticial.

Las concentraciones de **amonio** en el agua intersticial fueron hasta de 2 órdenes de magnitud superiores con respecto a las encontradas en el agua de columna. En general, no se observaron grandes diferencias entre la bajamar y la pleamar. En el agua intersticial, se observa que las concentraciones de amonio aumentan hacia fines de otoño y comienzos de la primavera, con valores mínimos al comienzo del verano. En el agua de columna no se observó ningún comportamiento definido, sin embargo se vieron mayores concentraciones durante el segundo año de muestreo.

Las concentraciones de **nitrógeno inorgánico disuelto (DIN)** presentes en el agua intersticial fueron de hasta un orden de magnitud mayor a las del agua de columna. En ambos casos las concentraciones variaron notablemente a lo largo del año. En el agua de columna, los valores fueron mayores durante todo el segundo año de estudio, pero se pudo observar que en los dos años muestreados las concentraciones fueron mayores a fines del otoño, con un aumento (aunque menor), durante el verano. En el agua intersticial las concentraciones fueron muy fluctuantes, con picos de concentraciones hacia fines del otoño y principios de la primavera.

Con respecto a los **porcentajes de las especies** presentes de **DIN** en el agua intersticial se observa en general la tendencia: amonio>nitrato>nitrito. En cambio, en el agua de columna se observaron dos tendencias diferentes: en algunos meses, amonio>nitrato>nitrito y en otros, nitrato>amonio> nitrito. El nitrito fue siempre la especie presente en menor proporción, y esto puede estar ligado a que el nitrito es menos estable que el nitrato y el amonio, y usualmente está presente en bajas

concentraciones. Además, el nitrato es completamente soluble en agua, por lo que es vulnerable al lavado a través del percolado por lluvias o irrigación (Addiscott, 1996). También debe considerarse que la mayoría de los fertilizantes utilizados en la agricultura contienen N en forma de nitrato o amonio, frecuentemente como nitrato de amonio (NH_4NO_3), aunque también han sido aplicadas otras formas como la urea (Cresser *et al.*, 1993).

Los valores de **fosfato** presentes en el agua intersticial fueron de hasta un orden de magnitud mayor a los del agua de columna. En esta última se observó un aumento de las concentraciones hacia fines del otoño, mientras que en el agua intersticial las concentraciones fueron más fluctuantes. Los mismos presentaron aumentos hacia fines del otoño y hacia fines de la primavera y el verano. En ningún caso se observaron diferencias significativas entre la bajamar y la pleamar.

En cuanto a los **silicatos**, las concentraciones en el agua intersticial también fueron iguales o mayores a las del agua de columna. En el agua de columna, las concentraciones presentaron un aumento hacia fines del otoño, invierno y primavera. Las menores concentraciones se presentaron en verano. Con respecto al agua intersticial, los silicatos no mostraron un comportamiento temporal, y las concentraciones fueron muy fluctuantes entre cada mes y entre los ciclos de marea. Los silicatos no presentan fuentes antropogénicas; y, por lo tanto, pueden servir como indicadores de procesos ambientales naturales, y son un importante indicador de aportes continentales. Por lo tanto, las máximas concentraciones presentes durante invierno y primavera se pueden deber a los mayores aportes terrígenos provenientes del drenaje continental por efecto de las precipitaciones.

Las concentraciones de nutrientes nitrogenados, silicatos y fosfatos registradas en este trabajo son similares o mayores a las informadas previamente por otros autores para el período 1995-1999 (De Marco, 2002; Marcovecchio *et al.*, 2006). Se han registrados picos de concentración varias veces mayores a los informados por los autores mencionados. Esto podría llegar a estar indicando que el uso de agroquímicos y las actividades agro-ganaderas en la zona aledaña –consideradas *a priori* como una fuente significativa de estos compuestos para la laguna costera– aumentaron en los últimos años (Maceira *et al.*, 2005).

Un comportamiento similar en la estacionalidad de los nutrientes en el agua de columna fue observado por Botté (2005) en el estuario de Bahía Blanca, Argentina y por Lopes *et al.* (2007) en la laguna costera Ria de Aveiro, Portugal, ambos estuarios templados. Además, en la Ría de Aveiro se ha descrito un comportamiento de los nutrientes en relación con las variaciones mareales: el DIN y los silicatos presentaron mayores concentraciones durante la bajamar, lo que puede atribuirse a que en esta laguna costera las profundidades son mayores que en Mar Chiquita y, por lo tanto, el efecto de las mareas es más pronunciado.

La relación de Redfield utilizada como indicador de las proporciones de nutrientes para los organismos fitoplanctónicos en ambientes marinos es $C : Si : N : P = 105 : 15 : 16 : 1$ (Redfield, 1958). Estas relaciones son frecuentemente utilizadas para definir la disponibilidad de recursos (del Amo *et al.*, 1997). En ambientes estuariales el fósforo suele ser el principal factor limitante para el desarrollo fitoplanctónico debido a la alta relación N:P (>16) (Redfield, 1958; Turner *et al.*, 1990; Zou *et al.*, 2002). El fitoplancton puede estar nutritivamente limitado debido a la desviación de alguna de las relaciones N:P, Si:P y Si:N (Rocha *et al.*, 2002; Domingues *et al.*, 2005). Para calcular si en la laguna Mar Chiquita el desarrollo fitoplanctónico se encuentra limitado por nutrientes en algún momento del año se calculó para cada uno diferentes relaciones, y se aplicó la relación de Redfield para lograr tales predicciones, en base a las siguientes premisas: (1) la limitación por N ocurre cuando $N:P < 16$ y $N:Si < 1$; (2) la limitación por P ocurre cuando $N:P > 16$ y $Si:P > 16$; y (3) la limitación por Si ocurre cuando $N:Si > 1$ y $Si:P < 16$. Este tipo de análisis y consideraciones fueron también aplicados por Dubravko *et al.* (1995) y Xu *et al.* (2008).

Se puede concluir que durante el segundo año de muestreo no se presentó limitación por N debido a las altas concentraciones del mismo durante todo el año, que resultaron mayores a las del primero. En cambio, durante el primer año sí hubo limitación por N, a excepción de los meses de verano y principio de otoño, cuando las concentraciones de N:Si fueron >1.

Con respecto al P, durante los meses de verano y principios de otoño del segundo año no se observó como limitante, ya que $Si:P < 16$. Durante el resto de ese

año, así como en algunos meses del primer año se registró limitación. En cuanto al Si, se puede concluir que en general este nutriente no fue limitante en ningún momento del año.

Los pigmentos participantes de la fotosíntesis constituyen una buena estimación de la biomasa fitoplanctónica, y de hecho, la determinación de la concentración de Clorofila *a* es aceptada como una medida directa de ésta (Zeitzerschel, 1978; Smayda, 1978).

El comportamiento de la **clorofila a** en ambas estaciones fue similar, y las concentraciones variaron notablemente con los ciclos de marea. Durante la mayor parte del año los valores de clorofila *a* registrados fueron altos. Las concentraciones mínimas de clorofila *a* se encontraron a comienzos del otoño. Durante el primer año se observaron 2 picos de máxima concentración durante fines del otoño y en la primavera. En el segundo año el primer pico se observó durante el invierno y otro en primavera. Los valores máximos se presentaron siempre durante la primavera. Estos picos coinciden con los florecimientos fitoplanctónicos registrados por De Marco (2002) y De Marco *et al.* (2005), dominados especialmente por diatomeas. Las máximas concentraciones de biomasa fitoplanctónica coinciden con las máximas concentraciones de nutrientes presentes.

La distribución de **feopigmentos** siguió una distribución esperada, ya que las mayores concentraciones encontradas se presentaron simultáneamente o luego de observarse los picos de máxima concentración de Clorofila *a*, reflejando así el grado de asociación con la clorofila *a* y de envejecimiento de la comunidad fitoplanctónica.

La concentración de **materia orgánica particulada (M.O.P.)** fue elevada, presentando los mayores valores a fines de invierno y en la primavera. En ambas estaciones las concentraciones fueron muy fluctuantes y presentaron grandes variaciones con respecto a las mareas. Los menores valores de M.O.P. coincidieron con las menores concentraciones de biomasa. La cantidad de materia orgánica depositada en el sedimento depende de la productividad de las aguas por encima de él (carga interna), del flujo de materia orgánica desde los aportes externos (carga externa) y de la eficiencia con que la materia orgánica es exportada desde el estuario por procesos físicos o por los consumidores. Por lo tanto, en esta laguna podemos

relacionar los períodos de mayores concentraciones de materia orgánica con aquellos períodos donde la presencia de biomasa es mayor y donde los aportes del drenaje continental también son mayores.

En las **tablas I.4 y I.5.** se indican las concentraciones de estos nutrientes presentes en otros estuarios del mundo influenciados por actividades humanas. Estos resultados sugieren que la laguna costera Mar Chiquita presenta concentraciones elevadas de nitratos, amonio, fosfatos y silicatos. Lo mismo sucede con la clorofila *a*. De esta forma podemos concluir que las actividades agrícola-ganaderas que se desarrollan en la cuenca de esta laguna están contribuyendo con grandes cantidades de estos nutrientes. Este aporte de nutrientes por las actividades agrícola-ganaderas también fue observado por De Marco (2002), quien informó que las características nutritivas de la laguna sugieren que el sistema terrestre adyacente parece ser la principal fuente de nutrientes. Sin embargo, también es importante tener en cuenta, que durante la mayor parte del año se registraron niveles de clorofila *a* relativamente elevados, con muy pocas ocasiones en donde se produjo una depleción total. Esto indica que durante la mayor parte del año hay producción biológica en esta laguna, lo que conlleva a una concentración elevada de materia orgánica (como se vio reflejado a lo largo de todo este estudio). Por lo tanto, esto también podría ser la causa de la elevada concentración de nutrientes presentes, producto de su regeneración por mineralización.

Los efectos de los aportes antropogénicos de nutrientes sobre la productividad primaria dependen de numerosos factores o procesos que son propios de cada ecosistema, los cuales pueden potenciar o mitigar los efectos de la eutroficación (Cloern, 2001). Los intercambios generados con las mareas y los flujos de agua afectan a la expresión de la eutroficación. En estudios previos, se ha observado que los sistemas costeros micromareales son más susceptibles a la eutroficación (Monbet, 1992; Cloern, 2001). Esto puede explicar las altas concentraciones observadas en este estudio.

TABLA 1.4: CONCENTRACIONES DE NUTRIENTES ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) Y PIGMENTOS ($\mu\text{g.L}^{-1}$) PRESENTES EN AGUA DE COLUMNA EN OTROS ESTUARIOS INFLUENCIADOS POR ACTIVIDADES ANTRÓPICAS

ESTUARIO	CONCENTRACIONES AGUA DE COLUMNA							trabajo
	amonio	nitrito	nitrato	DIN	fosfato	silicato	clorofila <i>a</i>	
Mar Chiquita	nd-130,04	0,11-2,47	0,99-149	4,71-212,61	0,37-18,72	8,17-880,22	nd-76,47	Este estudio
Bahía Blanca, Argentina				6,71-80,01	0,72-3,83	63,59-242,41	0,88-30,98	Spetter, 2006
Danshuei Estuary, Taiwan	≤ 350		≤ 33	5,5-390	0,01-7,5	2-300		Wen <i>et al.</i> , 2008
Pearl river estuary	3-12		5-56	18-66	0,5-1,2	9-41	<2-12	Ho <i>et al.</i> , 2008
Montego estuary, Portugal	1,2-15,87		0,74-36,06		0,20-3,06		1,43-18,05	Leston <i>et al.</i> , 2008
Ría de Aveiro, Portugal (zona intermedia)				5,4-194	0,5-2,4	10-126,3	0,5-7,9	Lopes <i>et al.</i> , 2007
Hooghly Estuary, India				13-35,25	1,51-2,64	65,48-150,90	1,99-3,57	Mukhopadhyay <i>et al.</i> , 2006
Guadiana Estuary, España		<1	1,5-58	6-100	0,6-7,3	<10-100		Domíngues <i>et al.</i> , 2005
Murrels Inlet, laguna costera, Estados Unidos	1.85-7.38		0,13-5,34		0,07-0,63	9,5-43,2	2-15	White <i>et al.</i> , 2004

I.5.CONCLUSIÓN

En ambas estaciones, a grandes rasgos, el comportamiento de los nutrientes y pigmentos es similar. En general, las máximas concentraciones de biomasa fitoplanctónica coinciden con las máximas concentraciones de nutrientes. Estos máximos valores se presentaron a fines de otoño y principios de invierno, y principalmente durante la primavera. Estos mayores valores de nutrientes presentes pueden estar relacionados con los mayores aportes continentales de agua dulce en la época de mayor lavado continental.

Los resultados hallados en cuanto a una mayor concentración de ciertos nutrientes como amonio, nitrato, fosfatos y en algunos casos silicatos en el agua de intersticial de las planicies de marea indicarían que éstas actúan como fuentes de nutrientes al ser re-distribuidores de esos materiales hacia el estuario y como sumidero de la actividad continental.

A partir del análisis de las variables físico-químicas de las aguas de la laguna costera Mar Chiquita, se puede concluir que algunas variables muestran a este ambiente como un sistema heterogéneo. Esto se debe a que al ser un sistema micromareal y de muy bajas profundidades, cualquier variación en cuanto a las descargas de cursos de aguas continentales o drenaje continental, condiciones meteorológicas (vientos, lluvias, temperaturas del aire), geomorfología, magnitud del ingreso de aguas oceánicas, generan un efecto pronunciado con variaciones diarias y estacionales de estos parámetros. La influencia de factores externos es mayor a la influencia ejercida por el agua marina a través de las mareas.

Capítulo II

ESTUDIO DE LA DINÁMICA BIOGEOQUÍMICA DE METALES PESADOS EN PLANICIES DE MAREA DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

Capítulo II.- ESTUDIO DE LA DINÁMICA BIOGEOQUÍMICA DE
METALES PESADOS EN PLANICIES DE MAREA DE LA
LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

II.1- INTRODUCCIÓN

Los estuarios son sistemas muy dinámicos tanto física como químicamente, los cuales actúan como “*buffers*” (amortiguadores) entre la tierra y el océano.

El flujo neto de elementos traza desde los ríos hacia el océano abierto depende de sus comportamientos en el estuario, así como también de las características de las correspondientes cuencas de drenaje. Durante este proceso de transporte, parte del material puede ser transformado dentro del estuario.

Los elementos traza transportados por los ríos pueden ser tanto de origen natural como antropogénico. Entre ellos se destacan los metales pesados, debido a su potencialidad para generar efectos deletéreos en el ambiente. Los metales pesados pueden ser transportados por los ríos tanto en solución como en la fase particulada.

El comportamiento de los metales pesados disueltos en aguas estuariales está controlado principalmente por las interacciones partícula/agua y por los procesos físico-químicos de la solución (como por ejemplo la floculación, la formación de complejos orgánicos e inorgánicos, la adsorción, la resuspensión de sedimentos, entre otros; Flegal *et al.*, 1991; Moran *et al.*, 1996). De esta forma, los estuarios constituyen un reactor natural en el cual los procesos heterogéneos que ocurren en la interfase entre la disuelta y el material particulado en suspensión (MPS) representan una parte importante de los ciclos biogeoquímicos de los elementos traza (Zhou *et al.*, 2003; Landajo *et al.*, 2004; Morillo *et al.*, 2005).

Por lo tanto, el estudio del comportamiento biogeoquímico de las aguas estuariales es muy relevante para la interpretación de la biogeoquímica de los metales pesados en el océano, ya que permite comprender los procesos físicos y

químicos que ocurren en el estuario, así como también el estado ambiental de las cuencas de drenaje (Wang y Liu, 2003).

A pesar de que los procesos químicos y biológicos son similares en todos los estuarios, la distribución de metales pesados y sus tasas de reactividad varían en gran medida entre cada uno de estos ambientes. Estos dependen de factores ambientales como de tiempos de residencia hidrodinámicos, los patrones de mezcla y los procesos de transporte, entre otros. Por lo tanto, no existe un patrón universal del comportamiento de los metales pesados en los estuarios (van der Berg, 1993; Camusso *et al.*, 1997).

Las lagunas costeras son sistemas con características físico-químicas únicas debido a los fuertes gradientes de salinidad, temperatura, pH, oxígeno disuelto, potencial redox, a las características químicas de los sedimentos y a la composición de especies químicas. Por otra parte, estos sistemas pueden ser considerados “capturadores” de sedimentos, cuando actúan como una trampa para los materiales que llegarán al medio marino, al retener los sedimentos procedentes de tierra.; y en otros casos pueden ser considerados “exportadores” de sedimentos. Éstos actúan también como filtros y sumideros de muchos contaminantes, de manera que pueden a su vez actuar como fuente de transmisión a los organismos marinos (Ingersol, 1995).

En las lagunas costeras los metales pesados poseen un interés particular. Varios estudios indican que estos elementos producen efectos tóxicos que pueden llegar a ocasionar grandes daños ecológicos dentro de estos ambientes costeros (Marín-Guirao *et al.*, 2005 a,b). Los metales, como el Zn, Fe, Cu, y Mn, son micronutrientes biológicamente esenciales para el crecimiento de muchos organismos acuáticos. Sin embargo, estos micronutrientes pueden volverse tóxicos a concentraciones elevadas (Sunda, 1989). Otros metales, como por ejemplo Pb y Hg, no son esenciales para los organismos y son altamente tóxicos a concentraciones traza. Por lo tanto, el tipo y concentración de metales pesados que ingresan a las lagunas costeras son de vital interés. En las lagunas costeras, el ingreso de metales pesados puede producirse a partir de descargas industriales, urbanas, portuarias o

agrícolas, así como también por deposición atmosférica o drenaje natural (Kraepiel *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1994; Zwolsman *et al.*, 1997, Kabata-Pendias A., 1995).

La laguna costera Mar Chiquita es una Reserva Mundial de Biosfera declarada así por MAB-UNESCO en abril de 1996. La Reserva MAB comprende la laguna (unas 5000ha, superficie que varía según las precipitaciones anuales) y los campos aledaños, de uso principalmente ganadero. Sin embargo, la cuenca de la laguna cubre alrededor de 1.000.000 ha. Sobre ella desaguan 21 arroyos y canales artificiales que nacen en el Sistema de Tandilia. Un estudio reciente realizado en la Provincia de Buenos Aires sobre el uso de agroquímicos en las actividades agrícolas desarrolladas clasificó al área de esta cuenca como una zona principalmente mixta agroganadera, donde los principales cultivos son papa, trigo, maíz y girasol, también comprende una región hortícola (Capello y Fortunato, 2008). Debido a que en la cuenca de esta laguna no se desarrollan actividades urbanas ni industriales importantes, las actividades agrícolas aparecen como las principales fuentes potenciales de metales pesados para esta laguna.

Por lo tanto, debido a que podría existir una potencial fuente de metales pesados hacia la laguna, el objetivo general de este capítulo fue:

- Determinar la dinámica estacional y la concentración de metales pesados (Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Mn, Fe y Ni) en planicies de marea de Mar Chiquita en relación al ciclo de marea.

Los objetivos específicos de este capítulo fueron:

- Determinar la dinámica estacional y concentración de metales pesados disueltos (Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Mn, Fe y Ni) en planicies de marea de Mar Chiquita en función al ciclo de marea.
- Determinar la dinámica estacional y concentración de metales pesados (Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Mn, Fe y Ni) en el material particulado en suspensión de las planicies de marea de Mar Chiquita en función al ciclo mareal.
- Determinar la dinámica estacional y la concentración de metales pesados (Cd, Pb, Cu, Zn, Cr, Mn, Fe y Ni) en sedimento de las planicies de marea de Mar Chiquita en función al ciclo mareal.

II.2- MATERIALES Y METODOS

Se realizaron un total de 19 campañas de muestreo desde mayo de 2004 hasta junio de 2006. Estas campañas se realizaron en conjunto con las campañas de toma de muestras de nutrientes y parámetros hidrográficos. Las fechas y los sitios de muestreo seleccionados están descritos en el Capítulo I.

En cada una de las campañas se tomaron muestras de agua de columna subsuperficial (AC), agua intersticial (AI) y sedimento superficial durante la bajamar y la pleamar para la determinación de metales pesados. Los metales pesados determinados en cada una de las matrices se detallan en la *Tabla II.1*.

TABLA II.1: METALES PESADOS DETERMINADOS EN CADA UNA DE LAS MATRICES MUESTREADAS DURANTE LAS CAMPAÑAS.

Metal	Agua de columna subsuperficial	Agua intersticial	Material particulado suspensión	Sedimento
Cd	✓	✓	✓	✓
Cu	✓	✓	✓	✓
Pb	✓	✓	✓	✓
Zn	✓	✓	✓	✓
Ni	✓	✓	✓	✓
Fe	✓	✓	✓	✓
Cr	✓	✓	✓	✓
Mn			✓	✓

II.2.1- Toma de muestras

Las muestras de agua para la determinación de metales pesados se recolectaron en envases plásticos de PET (polietilentereftalato) con una capacidad de

1.5 L, previamente acondicionadas. Antes de la toma de las muestras, estos envases fueron enjuagados con agua del mismo lugar de muestreo.

Las muestras de agua subsuperficial se obtuvieron empleando directamente los envases plásticos, a una profundidad de ~15cm por debajo de la superficie del agua. Para la obtención del agua intersticial se realizaron varios pozos en planicies de marea de aproximadamente 40cm de profundidad y 30cm de ancho y se dejó drenar el agua en su interior. La misma se recolectó utilizando pipetas de vidrio de 250 ml previamente acondicionadas. Las muestras fueron transportadas hasta el laboratorio en conservadoras y en oscuridad. En el laboratorio las muestras fueron almacenadas a 4° C en oscuridad hasta su inmediato análisis.

La toma de muestras de sedimento superficial se realizó empleando tubos tipo saca-testigos (*corers*) de PVC de 5cm de diámetro y 15cm de longitud, introduciéndolos hasta una profundidad de ~10cm. Luego las muestras fueron retiradas de los tubos, colocadas en bolsas plásticas, y transportadas hasta el laboratorio en conservadoras y en oscuridad.

II.2.2- Procesamiento de las muestras

Procesamiento de muestras de agua y MPS

Una vez en el laboratorio, las muestras de agua fueron inmediatamente filtradas tanto para la determinación de metales pesados disueltos (Dis) como en el material particulado en suspensión (MPS). Mientras se realizaba la filtración, las muestras se mantuvieron a baja temperatura (4° C) y en oscuridad, para retardar la acción biológica y la posible hidrólisis de compuestos y complejos químicos. El tiempo máximo transcurrido desde su recolección hasta su posterior filtrado no superó las 96 hs. La muestra de agua filtrada se recogió en envases de PET preacondicionados, se acidificó hasta pH<2 -utilizando ~1.5 ml de ácido clorhídrico concentrado por cada litro de muestra- y se conservó refrigerada a 4° C hasta su análisis.

Para el filtrado de las muestras se utilizaron filtros de acetato de celulosa, Millipore HAWP 04700, de 0.45µm de tamaño de poro y 47mm de diámetro, previamente acondicionados y pesados en balanza analítica. Posteriormente, los filtros fueron secados hasta peso constante (48 hs) dentro de cápsulas de Petri acondicionadas en estufa a $50 \pm 5^\circ \text{C}$.

Una vez secos, los filtros con el material retenido se pesaron nuevamente en balanza analítica. De esta forma se obtuvo, por diferencia de pesos, el peso seco de cada muestra de MPS. El volumen filtrado por cada filtro varió entre 250-600ml, dependiendo de cada muestra.

Finalmente, los filtros se colocaron en desecador dentro de pequeñas bolsas de polietileno hasta la posterior determinación de metales pesados en el MPS.

Procesamiento de muestras de sedimento

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron colocadas en cápsulas de Petri de vidrio acondicionadas. Luego fueron secadas en estufa a $50 \pm 5^\circ \text{C}$, hasta peso constante (aproximadamente 72 horas). Una vez secos, se procedió a quitar manualmente los bioclastos y material orgánico presentes (vegetal o animal) utilizando pinzas plásticas. Las muestras fueron desagregadas y homogeneizadas empleando un mortero de porcelana.

Finalmente las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas dentro de un desecador para evitar la entrada de humedad hasta su posterior análisis.

II.2.3- Metodología analítica

Determinación de metales pesados disueltos

Para la determinación de los metales pesados disueltos Cd, Pb, Cr, Ni, Cu, Zn y Fe se siguió el método descrito por Botté *et al.* (2008), basado en el previamente

propuesto por Koirtyohann y Wen (1973), y que consiste en la formación de un complejo metal-agente quelante y una extracción con solvente orgánico.

Para esta determinación cada muestra de agua filtrada fue trasvasada a un erlenmeyer y el pH fue ajustado a 4, utilizando amonio o ácido clorhídrico según correspondiese. Luego fue colocada, por duplicado, una muestra de 500 ml en embudos de separación de vidrio borosilicato de 1000 ml de capacidad. Se les agregaron 10 ml de solución acuosa al 1% del complejo pirrolidín ditiocarbamato de amonio (APDC) y 20 ml del solvente orgánico metil isobutilcetona (MIBK). Se procedió a la agitación mecánica de las ampollas durante 30 minutos a velocidad media y se dejaron reposar aproximadamente 12 horas. Pasado este período se procedió a la separación de las fases orgánica y acuosa.

Para eliminar el error causado por las variaciones en el volumen de la fase orgánica, se recuperó la fase orgánica en vasos de precipitado de 100 ml, los que se colocaron tapados con vidrios de reloj en plancha calefactora a 120° C hasta reducir su volumen hasta 8 ml aproximadamente. Luego los extractos obtenidos fueron trasvasados a tubos de centrífuga graduados con tapón esmerilado, enjuagando los vasos de precipitados y llevando a un volumen final de 10 ml con MIBK-saturado en agua.

En todos los casos la lectura de las muestras se realizó conjuntamente con 2 blancos de reactivos y 4 tratamientos con concentraciones crecientes conocidas, y de esta forma poder obtener una curva de calibración para cada metal, procurando -en todos los casos- mantener la linealidad para asegurar la relación absorbancia-concentración (*Ley de Lambert-Beer*). El agua usada para preparar los blancos de reactivos y los estándares es "agua libre de metales", la cual se obtuvo realizando tres extracciones consecutivas (sobre la fase acuosa) al agua colectada en el ambiente bajo estudio.

Determinación de metales pesados en material particulado en suspensión

Los metales Cd, Pb, Cr, Ni, Cu, Zn, Mn y Fe se determinaron mediante el método propuesto por Marcovecchio y Ferrer (2005). La metodología se basa en la

destrucción de la materia orgánica presente en las muestras por “mineralización húmeda” con una mezcla de ácidos. Se trabaja a temperatura controlada, con reducción del volumen hasta casi sequedad y luego dilución con ácido nítrico al 0.7%.

Para llevar a cabo esta determinación, los filtros de membrana con el MPS (peso conocido) fueron colocados en tubos de ensayo. A cada tubo se le agregaron 3 ml de ácido nítrico concentrado y 1 ml de ácido perclórico concentrado.

La mineralización de las muestras se llevó a cabo en un baño de glicerina sobre una plancha calefactora, a una temperatura de $110 \pm 10^{\circ}\text{C}$ y agitando suavemente cada 20-30 minutos. En los casos en que fue necesario se agregaron cantidades adicionales de ácido nítrico concentrado. Una vez completada la mineralización y obtenido un extracto de 1 ml aproximadamente, los tubos fueron retirados del baño y se dejaron enfriar. Cada extracto fue trasvasado con pipeta Pasteur a tubos de centrífuga graduados con tapa esmerilada. Cada tubo de ensayo fue enjuagado 3-4 veces con solución acuosa de ácido nítrico 0.7% v/v y cada enjuague fue trasvasado al tubo graduado enrasando a un volumen final de 10 ml.

Las lecturas de absorbancia de los extractos se hicieron en un espectrofotómetro de absorción atómica (EAA), con llama aire-acetileno. En cada tanda de lectura se trabajó con dos blancos de reactivo y dos blancos de filtros de membrana sin muestra. Todos los blancos se trataron de igual forma que las muestras.

Determinación de metales en sedimento

La metodología utilizada fue la misma mencionada en el apartado de metales en MPS. La cantidad de muestra utilizada en este caso fue de 500 ± 50 mg.

NOTA

- Todo el material utilizado durante la toma, procesamiento y análisis de las muestras en cada una de las matrices analizadas estuvo previamente acondicionado, mediante la metodología propuesta por APHA-AWWA-WEF (1998). El material fue

lavado con solución detergente no iónica y enjuagado profundamente con agua corriente y finalmente con agua destilada; luego fue inmerso en solución acuosa de ácido nítrico 0.7% v/v durante al menos 24-48 horas y vuelto a enjuagar 3 veces con agua destilada.

-Los reactivos utilizados en todos los casos fueron ultrapuros, para evitar cualquier tipo de contaminación e interferencias en las determinaciones.

-Todos los análisis se realizaron por duplicado.

II.2.4- Descripción de las características del método y equipo utilizado para la determinación del contenido de metales pesados

La determinación de las concentraciones de metales para todas las matrices analizadas fue realizada midiendo la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro de absorción atómica. El equipo utilizado fue un Perkin Elmer modelo 2380. La mezcla de gases para la generación de la llama fue aire-acetileno.

Condiciones de lectura para cada metal

Se utilizaron lámparas de cátodo hueco específicas para cada metal. En la *Tabla II.2* se indican las condiciones de lectura para cada metal.

TABLA II.2. CONDICIONES FIJAS DE LECTURA, PARA CADA METAL POR ABSORCIÓN ATÓMICA

	Longitud de onda (nm)	Hendidura (nm)	Energía lámpara (mA)	Tipo de llama
Cd	228.8	0.7	4	azul oxidante
Cr	357.9	0.7	27	amarilla reductora
Cu	324.7	0.7	20	azul oxidante
Fe	248.3	0.2	30	azul oxidante
Mn	279.5	0.2	25	azul oxidante
Pb	283.3	0.7	10	azul oxidante
Ni	232.0	0.2	33	azul oxidante
Zn	213.8	0.7	17	azul oxidante

Calibración y cálculos

Para verificar la eficiencia de la metodología empleada y la certidumbre de la determinación analítica realizada se determinó la concentración de los metales pesados estudiados en material de referencia internacionalmente certificado (*pond sediments*, R.M. N°2) provisto por el National Institute for Environmental Studies (NIES), de Tsukuba, Japón. Los porcentajes de recuperación en los análisis de cada metal en el material de referencia se muestran en la *Tabla II.3*.

La lectura de las muestras se realizó conjuntamente con la de blancos y patrones de cada metal. El rango de concentración de los mismos es tal que se conserve una relación lineal entre su concentración y su absorbancia.

TABLA II.3. PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN EN LOS ANÁLISIS DEL MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO (NIES) PARA DETERMINAR LA CALIDAD ANALÍTICA (RANGOS)

Metal analizado	Sedimentos
Cu	95,5 - 99,4 %
Zn	97,4 - 101,5 %
Cd	91,4 - 99,3 %
Pb	94,7 - 98,8 %
Cr	96,9 - 99,8 %
Mn	92,6 - 99,0 %
Fe	97,4 - 101,3 %

A partir de los datos obtenidos fue calculada para cada tanda de muestras, y para cada metal en particular, la recta de regresión como mejor estimador de la curva de calibración.

Límite de detección y sensibilidad

El límite de detección y la sensibilidad de cada metal fueron calculados para los extractos medidos bajo las condiciones estándares de lectura descriptas anteriormente.

El **límite de detección del instrumento (LDI)** queda definido como la mínima concentración que produce una absorbancia equivalente al doble de la magnitud de la fluctuación de fondo (APHA-AWWA-WEF, 1998) y que puede ser distinguida de un ensayo en blanco.

La **sensibilidad** de un elemento es la concentración que produce una señal de 1% de absorbancia.

El **intervalo de concentración óptimo** se refiere al rango de concentración de los estándares internos o de los patrones de trabajo, que se extiende desde varias veces la concentración del LDI hasta la concentración a la cual la curva de calibración empieza a ser plana. En este rango se conserva una relación lineal entre conservación y absorbancia. Estos parámetros se muestran en la *Tabla II.4*.

TABLA II.4. LÍMITE DE DETECCIÓN, SENSIBILIDAD Y RANGO DE CONCENTRACIÓN ÓPTIMO, EXPRESADOS EN $\mu\text{g/ml}$ DE EXTRACTO

	Intervalo de concentración óptimo ($\mu\text{g/ml}$)	LDI $\mu\text{g/ml}$ de extracto	Sensibilidad $\mu\text{g/ml}$ de extracto
Cu	hasta 10	0.02	0.09
Zn	0.20 - 10	0.015	0.05
Cd	0.05 - 5	0.001	0.04
Pb	hasta 20	0.07	0.7
Cr	hasta 5	0.003	0.1
Mn	hasta 3	0.02	0.055
Fe	hasta 5	0.05	0.12
Ni	hasta 5	0.05	0.15

Límite de detección del método

El límite de detección del método (LDM) es la concentración mínima de un elemento que cuando es procesado a través del método completo puede ser detectada por encima del ruido de fondo con un nivel de confianza del 99%. Los resultados por debajo de este límite son reportados como “no detectables” (nd).

Para el cálculo de estos límites fueron tomados en cada caso 12 ensayos de blanco de reactivo sometidos a los mismos pasos de procesamiento de las muestras y

se obtuvieron los valores de absorbancia. Con éstas fueron calculadas las concentraciones finales teniendo en cuenta los algoritmos específicos para cada método y matriz. Los LDM fueron calculados multiplicando la desviación estándar (DS) de las doce réplicas (n) por el valor apropiado obtenido de la tabla de “t-Student” para n-1 grados de libertad y un alfa de 0.01. Los LDM para cada metal en cada una de las matrices se muestran en la *Tabla II.5*.

TABLA II.5. LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO (LDM), SEGÚN EL MÉTODO APLICADO EN CADA UNA DE LAS MATRICES ANALIZADAS

Matriz		Cd	Pb	Cr	Ni	Cu	Zn	Mn	Fe
Disuelto	$\mu\text{g/ml}$	0.01	0.02	0.04	0.04	0.02	0.08		0.15
	$\mu\text{g/L}$	0.18	0.38	0.89	0.81	0.44	1.6		3.10
MPS	$\mu\text{g/ml}$	0.01	0.09	0.02	0.07	0.04	0.04	0.03	0.12
	$\mu\text{g/g}$	0.99	9.26	2.21	6.67	3.50	3.97	2.87	12.05
Sedimento	$\mu\text{g/ml}$	0.01	0.11	0.01	0.08	0.04	0.04	0.03	0.14
	$\mu\text{g/g}$	0.27	2.15	0.29	1.54	0.77	0.88	0.58	2.73

II.2.5- Sedimento: análisis granulométrico

La determinación de las diferentes fracciones granulométricas en el sedimento sub-superficial se realizó aplicando la metodología estándar de tamizado y pipeteado (Krumbein & Pettijohn, 1938). Cada muestra obtenida fue secada en estufa a 100° C. Luego se extrajo una alícuota (~100 g) y se procedió a una separación en húmedo a través de un tamiz de 63 μm , obteniéndose una fracción gruesa y una fracción fina. La fracción gruesa se hizo pasar por una columna de tamices cada $\frac{1}{2}$ grado ϕ ($-\log_2$ del diámetro en mm), desde 4,0 mm hasta 63 μm . Lo retenido en cada tamiz fue pesado a la tercera cifra decimal.

La fracción fina (limo + arcilla) fue analizada por el método de pipeteado basado en la velocidad de caída de las partículas. La muestra fue dispersada mecánicamente en húmedo con un agitador a varilla, con el agregado de 0,63 g de

oxalato de sodio como dispersante. La muestra fue llevada a volumen y cada alícuota (20 ml) fue secada en estufa a 80 °C. Por diferencia se obtuvieron las fracciones cada grado ϕ , la fracción limo (0,0310 - 0,0039) y la fracción arcilla (0,00195 - 0,00098 - 0,00049). Los pesos obtenidos fueron introducidos en un programa de computación obteniéndose la curva granulométrica y los parámetros estadísticos correspondientes (Perillo *et al.*, 1984).

II.2.6- Análisis de los datos

Para el estudio de la relación entre cada uno de los metales disueltos y en MPS fue utilizada la correlación de Pearson ($P \leq 0.5$).

Los análisis fueron llevados a cabo utilizando el programa Sigmastat Software 3.0®.

II.3- RESULTADOS

II.3.1- Metales pesados disueltos

La distribución temporal de cada uno de los metales pesados disueltos estudiados se muestra en las *Figuras II.1-7*. En la *Tabla II.6* se muestran los rangos de concentraciones encontrados en ambas estaciones de muestreo durante todo el período de estudio.

Los niveles de **Cd disuelto** fueron durante la mayor parte del período de estudio menores al LDM o cercanas a ese valor. Picos de concentración máxima de $7,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ en la Estación Confluencia y de $4,36 \mu\text{g.L}^{-1}$ en la Estación Puente se presentaron en el mes de mayo de 2004. En los meses de febrero, abril y junio de 2006 se registraron concentraciones relativamente elevadas, cercanas a $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ en ambas estaciones. Los valores disueltos presentes en AI fueron similares a los presentes en el AC (*Figura II.1*).

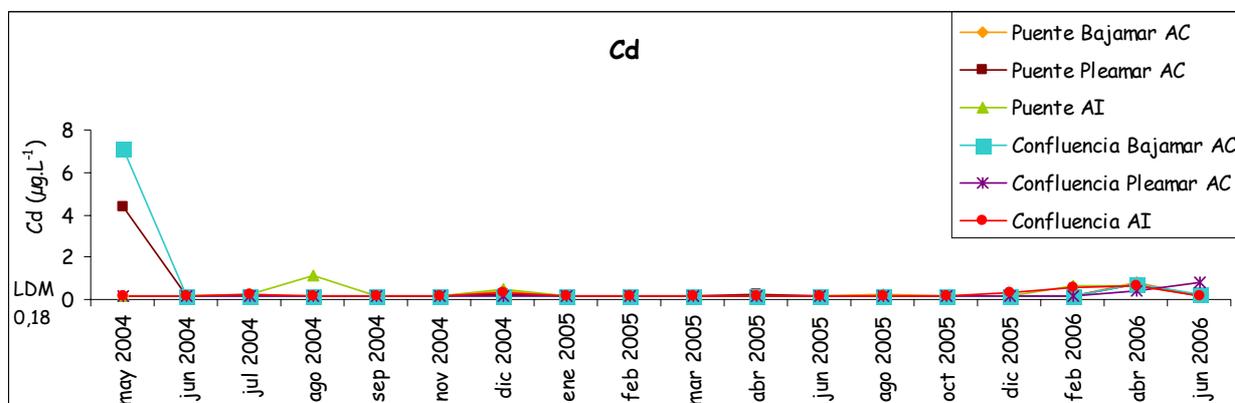


FIGURA II.1. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd DISUELTO ($\mu\text{g.L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los niveles de **Cu disuelto** fueron extremadamente variables a lo largo de todo el período de estudio. Se registraron concentraciones que variaron desde valores nd hasta extremadamente altos de $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$. La mayor parte del año los

valores medios fueron de aproximadamente $500 \mu\text{g.L}^{-1}$. El comportamiento temporal de este metal en ambas estaciones de muestreo fue diferente, aunque en ningún caso se observó un patrón característico. Los valores de este metal presentes en AC y AI durante un mismo muestreo fueron diferentes. No se observó ningún patrón de comportamiento a lo largo del período de estudio (*Figura II.2*).

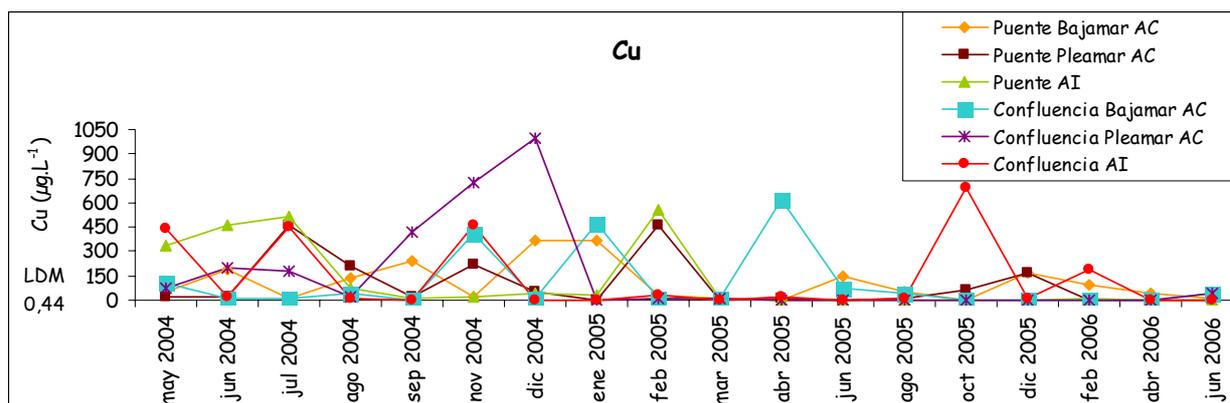


FIGURA II.2. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cu DISUELTO ($\mu\text{g.L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Con respecto a las concentraciones de **Pb disuelto**, en muchas ocasiones se registraron altos valores (*Figura II.3*). Las mayores concentraciones se observaron en el mes de noviembre de 2004, con valores de $1458 \mu\text{g.L}^{-1}$ y $850 \mu\text{g.L}^{-1}$ en AC y AI en la Estación Confluencia, respectivamente. En otras ocasiones, también se presentaron altos valores de entre $100\text{-}300 \mu\text{g.L}^{-1}$ en ambas estaciones de muestreo, tanto en AC como AI. No se observó ningún comportamiento particular con respecto a los ciclos mareales ni con respecto a las variaciones temporales.

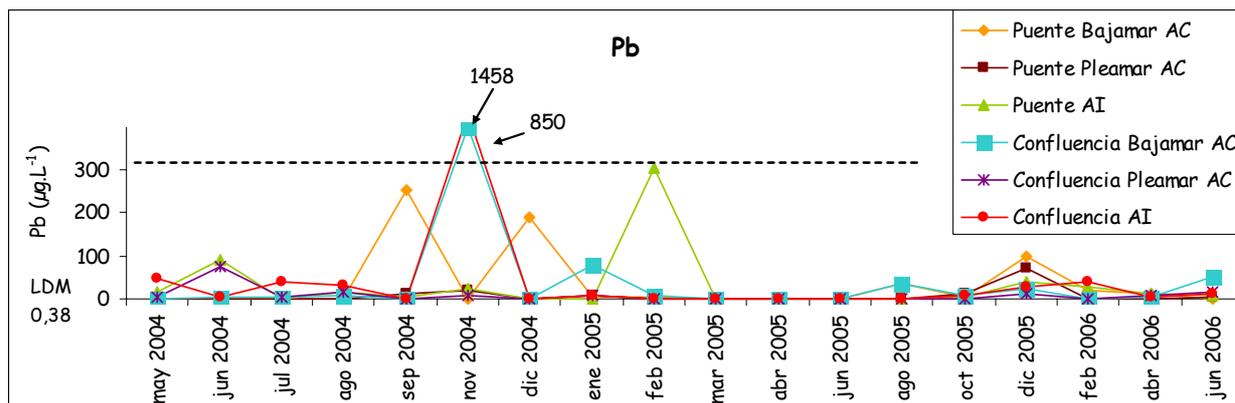


FIGURA II.3. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Pb DISUELTO ($\mu\text{g.L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Las concentraciones de **Zn disuelto** presentaron valores extremadamente variables, desde niveles nd hasta concentraciones máximas de 3864 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en el mes de noviembre de 2004 en la Estación Confluencia y 2418 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en el mes de febrero de 2005 en la Estación Puente, en ambos casos en AI. También se registraron valores cercanos a 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en varias ocasiones tanto en AC como en AI (*Figura II.4*). No se observó ningún comportamiento particular en relación a los ciclos de mareas ni en relación al tiempo. Las concentraciones presentes en ambas estaciones de muestreo presentaron amplias diferencias.

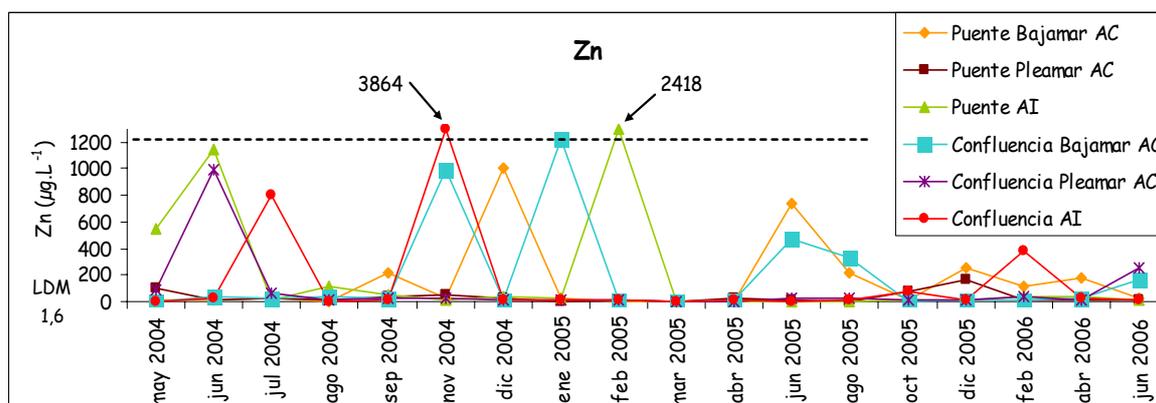


FIGURA II.4. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Zn DISUELTO ($\mu\text{g.L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

El **Ni disuelto** también presentó grandes variaciones temporales (*Figura II.5*). Los mayores valores presentes fueron de 80-100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en ambas estaciones de muestreo. Desde el mes de noviembre de 2004 hasta abril de 2005 las concentraciones estuvieron cercanas al LDM. El resto del período de estudio las concentraciones fueron mayores. Este metal tampoco presentó ningún patrón de comportamiento temporal. Las concentraciones presentes en AC y AI presentaron grandes variaciones, pero en ningún caso se observó un comportamiento particular.

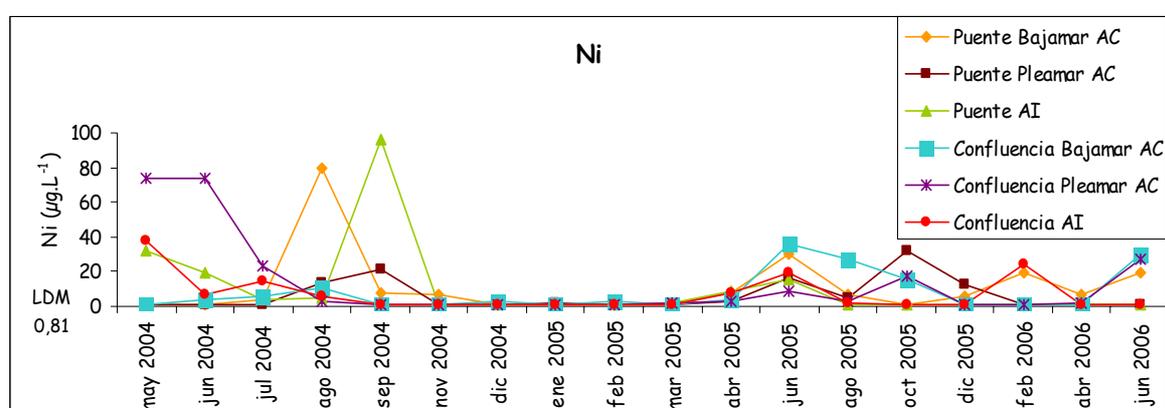


FIGURA II.5. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Ni DISUELTO ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

El **Fe disuelto** mostró diferencias en los niveles de sus concentraciones a lo largo del período de estudio (*Figura II.6*). Sin embargo, en ninguno de los casos las concentraciones fueron excesivamente altas. Las concentraciones oscilaron entre nd - $\sim 230 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Las concentraciones presentes en ambas estaciones de muestreo fueron similares, al igual que las concentraciones entre el AC y el AI. No se observó ningún patrón de comportamiento temporal.

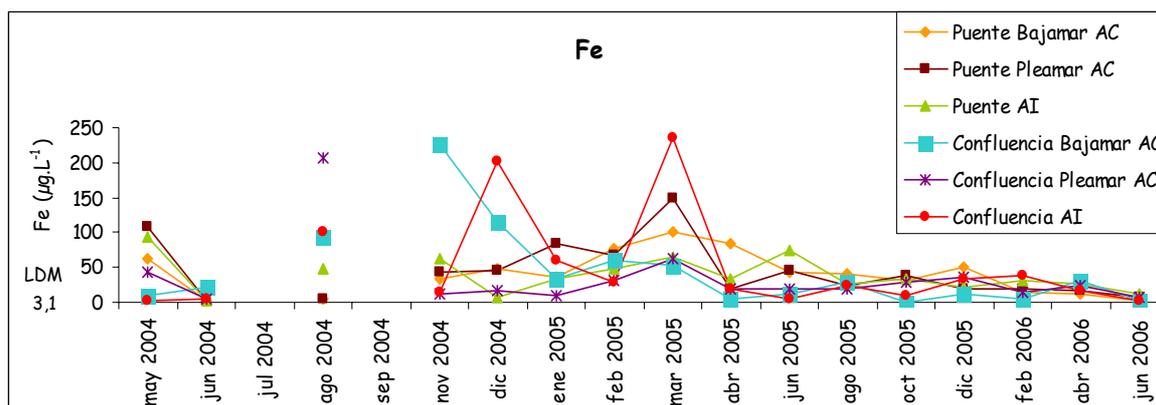


FIGURA II.6. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Fe DISUELTO ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Las concentraciones de **Cr disuelto** presentes en ambas estaciones de muestreo fueron muy similares (Figura II.7), variando entre valores nd y cercanos a los $40 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Las concentraciones presentes en AC y AI fueron muy similares. No se observó ningún comportamiento particular en función del tiempo ni en función a los ciclos de mareas. Tanto las variaciones temporales como las concentraciones medidas en ambas estaciones de muestreo fueron similares.

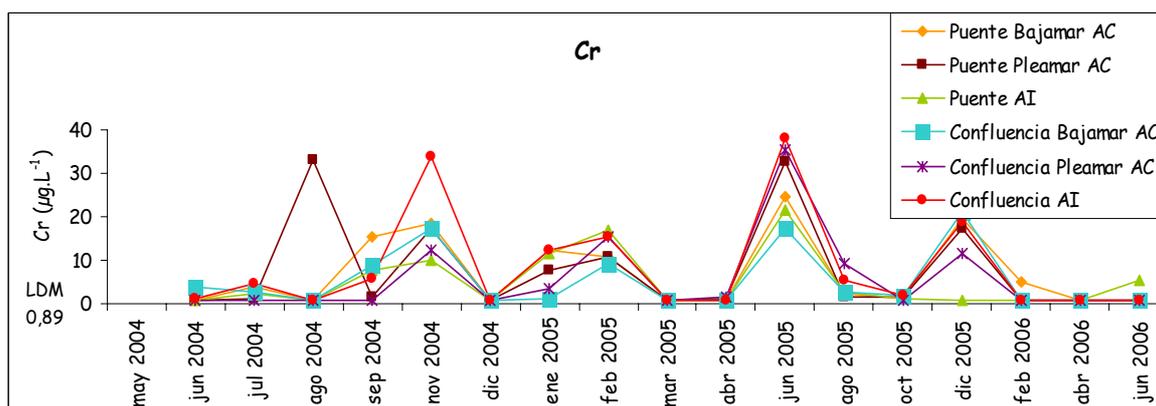


FIGURA II.7. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cr DISUELTO ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) EN AGUA DE COLUMNA E INTERSTICIAL DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Ninguno de los metales disueltos estudiados, tanto en AC como en AI mostró un patrón de comportamiento particular en función al tiempo ni en función al estado de las mareas.

TABLA II.6: RANGOS DE CONCENTRACIONES ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) DE METALES DISUELTOS ENCONTRADOS EN LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO MAYO 2004-JUNIO 2006.

Estación marea	Agua de columna				Agua intersticial	
	Confluencia		Puente		Confluencia	Puente
	pleamar	bajamar	pleamar	bajamar	pleamar	pleamar
Cd	nd-0,84	nd-7,1	nd-4,36	nd-0,78	nd-0,63	nd-1,14
Cu	0,93-1000,23	1,52-614,26	nd-462,51	2,64-372,1	nd-690,28	1,62-557,77
Pb	nd-73,44	nd-850	nd-72,08	nd-253,95	nd-430	nd-304,96
Zn	nd-995,12	nd-1224,38	nd-167,43	nd-1001,77	nd-1395	nd-1350
Fe	5,65-207,12	nd-227,15	nd-149,4	nd-101,54	nd-236,07	nd-92,99
Ni	nd-74,16	nd-35,63	nd-31,75	nd-79,84	nd-38,27	nd-95,65
Cr	nd-35,25	nd-21,24	nd-33,09	nd-19,59	nd-38,01	nd-21,48

II.3.2- Metales pesados en sedimento

La clasificación de los sedimentos en base a su granulometría en ambas estaciones de muestreo demostró ser predominantemente arenoso- limoso.

La distribución temporal de cada uno de los metales pesados en sedimento estudiados se muestra en las *Figuras II.8-15*. En la *Tabla II.7* se muestran los rangos de concentraciones encontrados en ambas Estaciones de muestreo durante todo el período de estudio.

Las concentraciones de **Cd en sedimento** (*Figura II.8*) de la laguna costera Mar Chiquita estuvieron por encima de los niveles detectables a lo largo de todo el período de estudio. En ambas estaciones de muestreo las concentraciones fueron

similares. No se observó ningún patrón de comportamiento temporal. Las máximas concentraciones registradas fueron $\sim 3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

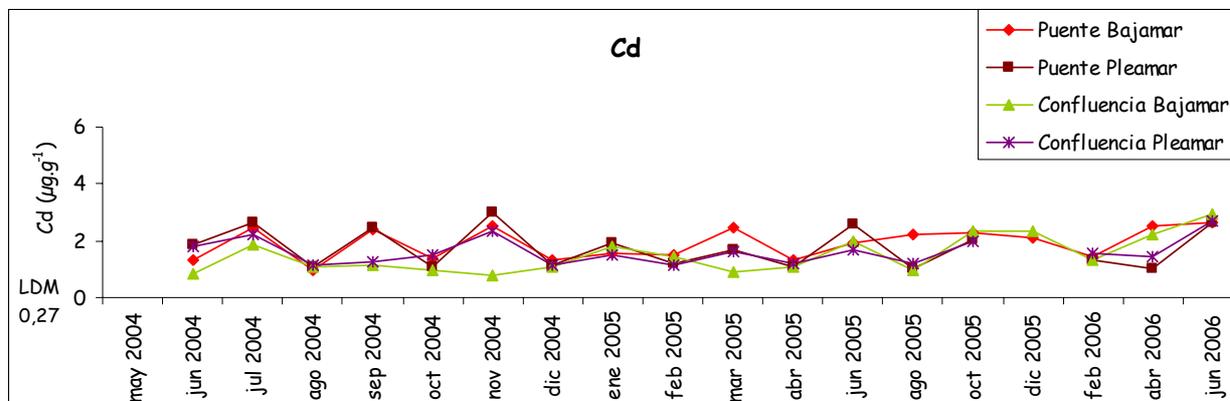


FIGURA II.8. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Las concentraciones de Cu presentes en sedimento variaron desde valores cercanos al LDM hasta concentraciones próximas a $\sim 13 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Sólo se presentó una concentración máxima de $22 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ durante la bajamar del mes de julio de 2004 en la Estación Confluencia. Los valores presentaron una variación cuasi permanente entre ~ 0 a $\sim 6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a lo largo del año, y no mostraron ningún comportamiento temporal ni con respecto al ciclo de mareas (Figura II.9). Las concentraciones presentes en ambas estaciones de muestreo fueron similares.

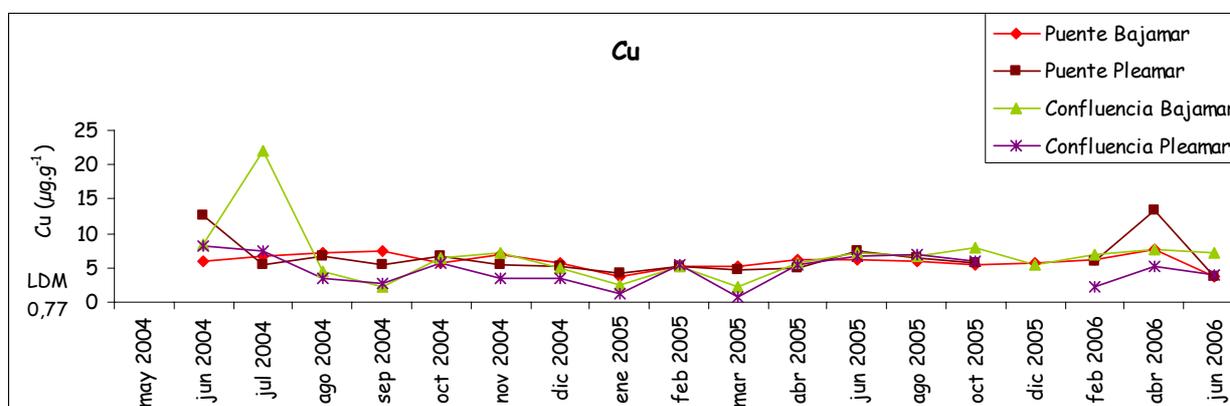


FIGURA II.9. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cu EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los niveles de **Pb en sedimento** presentes en la laguna Mar Chiquita mostraron un comportamiento similar en el tiempo en ambas estaciones de muestreo y entre los estados mareales, con valores que presentaron variaciones entre las campañas de muestreo y fluctuaron entre $\text{nd}\sim 33 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. No se detectó ninguna dinámica particular temporal de este metal (*Figura II.10*). Las concentraciones entre bajamar y pleamar de un mismo ciclo de marea fueron similares.

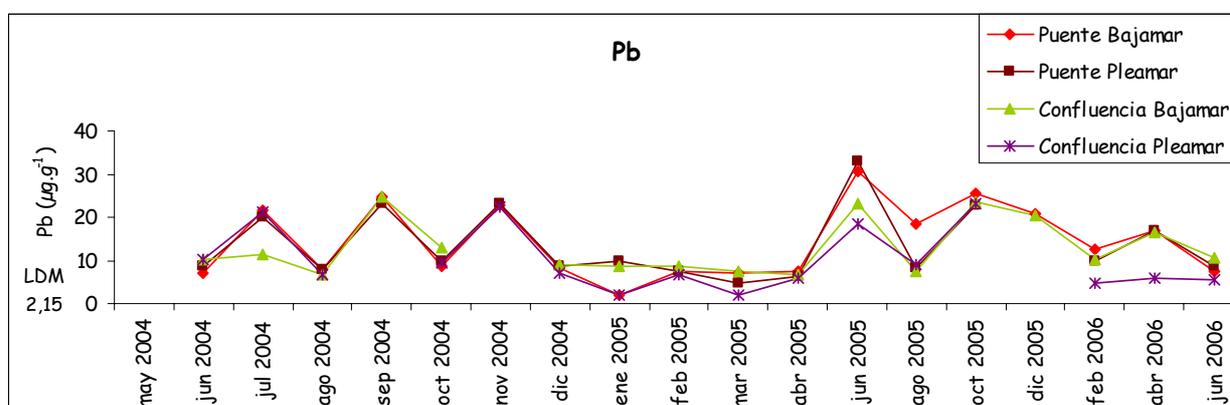


FIGURA II.10. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Pb EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los niveles de **Zn en sedimento** también presentaron variaciones a lo largo de las campañas de muestreo. Los valores detectados en ambas estaciones fueron similares, estuvieron dentro de un rango de $5,10\text{-}49,41 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y no presentaron ningún tipo de comportamiento temporal ni con respecto al ciclo de marea (*Figura II.11*).

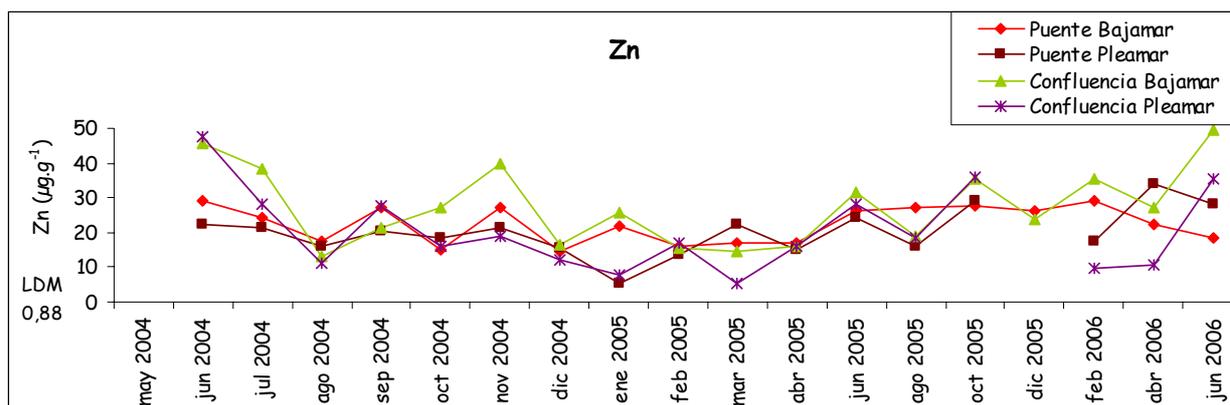


FIGURA II.11. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Zn EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los valores de **Ni en sedimento** de ambas estaciones de muestreo fueron muy similares, al igual que entre los estados extremos de un mismo ciclo de marea (*Figura II.12*). Sin embargo, las concentraciones presentaron variaciones entre cada campaña de muestreo. En todos los casos los valores presentes fueron mayores al LDM y oscilaron entre 5,34-44,89 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. No se observó ningún comportamiento temporal de este metal.

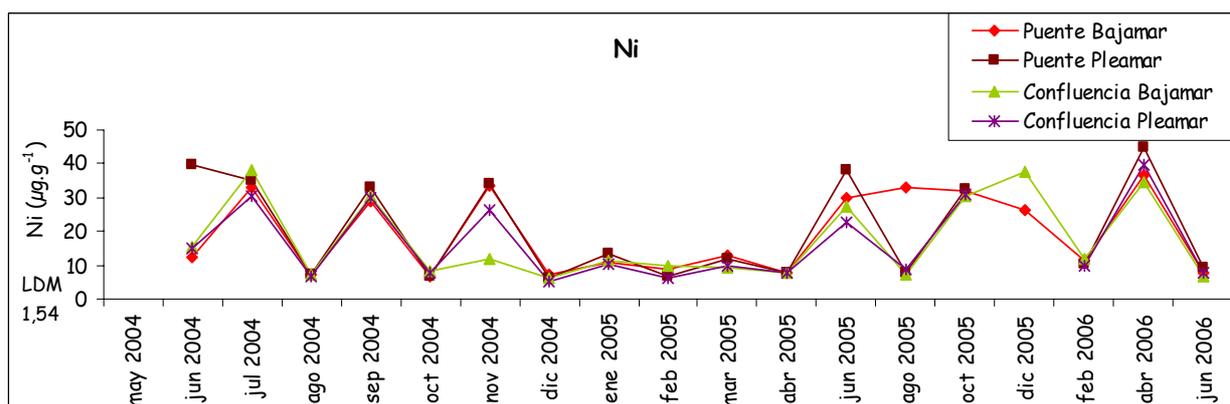


FIGURA II.12. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Ni EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Las concentraciones de **Fe en sedimento** fueron relativamente constantes a lo largo del período de estudio, a excepción de las dos últimas campañas de muestreo en donde se observaron picos de concentraciones máximas (*Figura II.13*). Las concentraciones presentes fluctuaron entre aquellas cercanas al LDM hasta de ~ 15 mg.g^{-1} . La concentración máxima hallada fue de $47,90 \text{ mg.g}^{-1}$ en el mes de junio de 2006. Este elemento no presentó ningún comportamiento temporal. Las concentraciones en ambas estaciones de muestreo fueron similares, al igual que su comportamiento temporal.

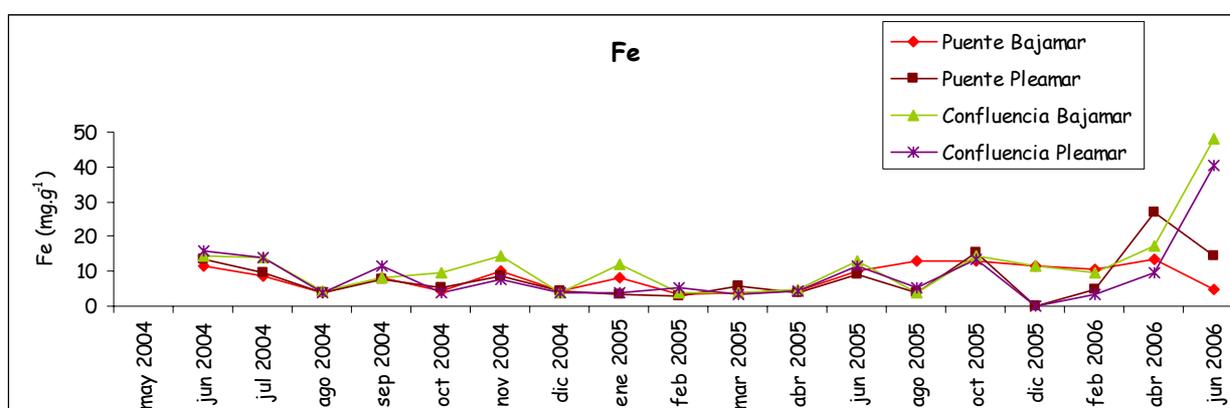


FIGURA II.13. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Fe EN SEDIMENTO (mg.g^{-1}) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los niveles de **Cr** presentes **en sedimentos** fueron similares en ambas estaciones de muestreo y no presentaron variaciones de acuerdo a los estados mareales ni variaciones temporales. Los valores mínimos fueron nd y los máximos cercanos a $8 \mu\text{g.g}^{-1}$ (*Figura II.14*).

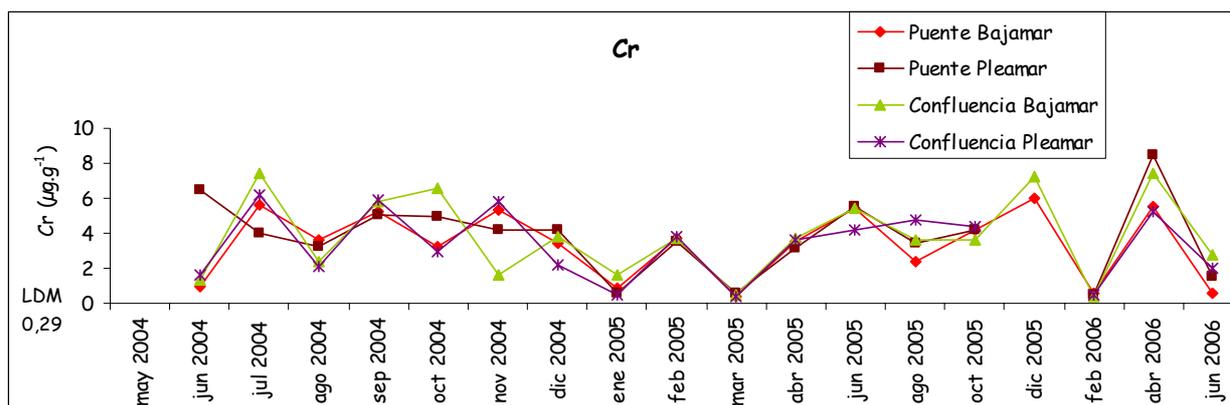


FIGURA II.14. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cr EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Por último, los niveles de **Mn en sedimento** presentaron valores extremadamente variables, con concentraciones similares en ambas estaciones de muestreo que fluctuaron entre ~ 65 - $1116 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Los valores de este metal no presentaron ningún patrón de comportamiento temporal ni con respecto a las mareas (Figura II.15).

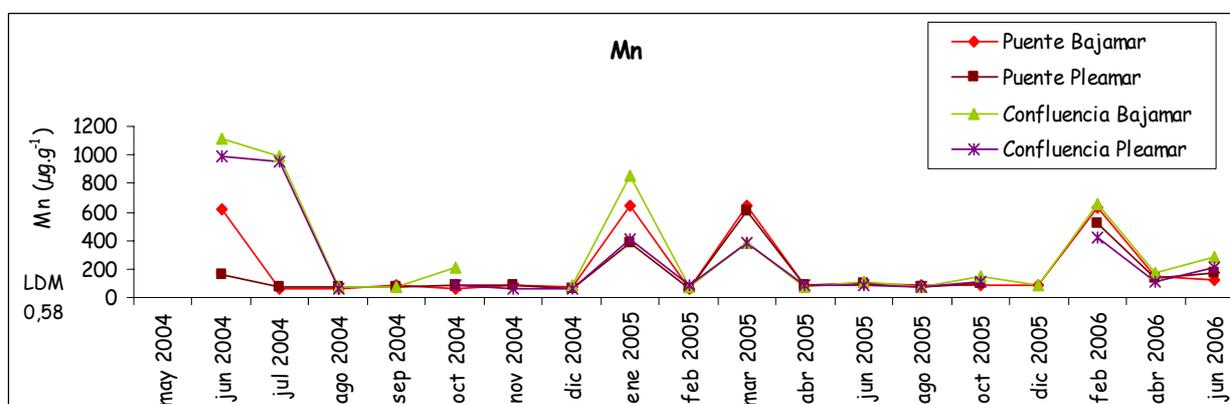


FIGURA II.15. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Mn EN SEDIMENTO ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

TABLA II.7: RANGOS DE CONCENTRACIONES DE METALES EN SEDIMENTO ENCONTRADOS EN LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO MAYO 2004-JUNIO 2006.

Estación	Confluencia		Puente		
	mareas	pleamar	bajamar	pleamar	bajamar
Cd ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	1,12-2,70	0,86-2,91	1,03-3,01	0,98-2,66	
Cu ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	nd-8,13	2,18-21,98	3,59-13,28	3,62-7,74	
Pb ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	nd-22,23	6,76-24,53	4,60-33,13	nd-30,49	
Zn ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	5,10-47,68	13,28-45,58	5,51-34,18	14,62-29,20	
Fe (mg.g^{-1})	nd-40,60	3,61-47,90	nd-26,96	3,42-13,14	
Ni ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	5,34-39,72	5,97-37,96	6,00-44,89	6,83-36,65	
Cr ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	0,43-6,16	0,34-7,42	0,53-8,45	0,82-6,03	
Mn ($\mu\text{g.g}^{-1}$)	63,97-993,1	69,77-1116,06	59,05-607,35	58,76-644,29	

En este caso, las concentraciones de metales en sedimentos estuvieron presentes durante todo el período del año en concentraciones detectables en la mayoría de los casos.

En general, las concentraciones de los metales Cd, Cu, Fe y Cr presentes en los sedimentos fueron relativamente estables a lo largo del período de estudio. En cambio, los metales Pb, Ni, Mn y Zn presentaron valores que variaron a lo largo del tiempo.

Las concentraciones en ambas estaciones de muestreo no presentaron grandes diferencias, al igual que las concentraciones con respecto al ciclo de marea.

II.3.3- Material particulado en suspensión (MPS)

Las **concentraciones de MPS** a lo largo del período de estudio presentaron valores entre 19-273,58 mg.L^{-1} (media 80,43 mg.L^{-1}) y entre 20,75-112,42 mg.L^{-1} (media 59,31 mg.L^{-1}) durante bajamar y pleamar respectivamente en la Estación Confluencia. En la Estación Puente, las concentraciones oscilaron entre 29-198,17 mg.L^{-1} (media 85,37 mg.L^{-1}) y 17,86-114,89 (media 59,12 mg.L^{-1}) durante bajamar y

pleamar, respectivamente. Las concentraciones a lo largo del período, en ambas estaciones de muestreo variaron en un orden de magnitud. Los resultados se presentan en la *Figura II.16*. No se observaron variaciones significativas entre las concentraciones de MPS durante pleamar y bajamar. Esto sugiere que la marea en esta laguna costera no influye en el comportamiento de este parámetro, y que probablemente las principales fuentes de MPS para la laguna son de origen terrestre. Además, tampoco se observó ningún patrón de comportamiento temporal a lo largo del período de estudio.

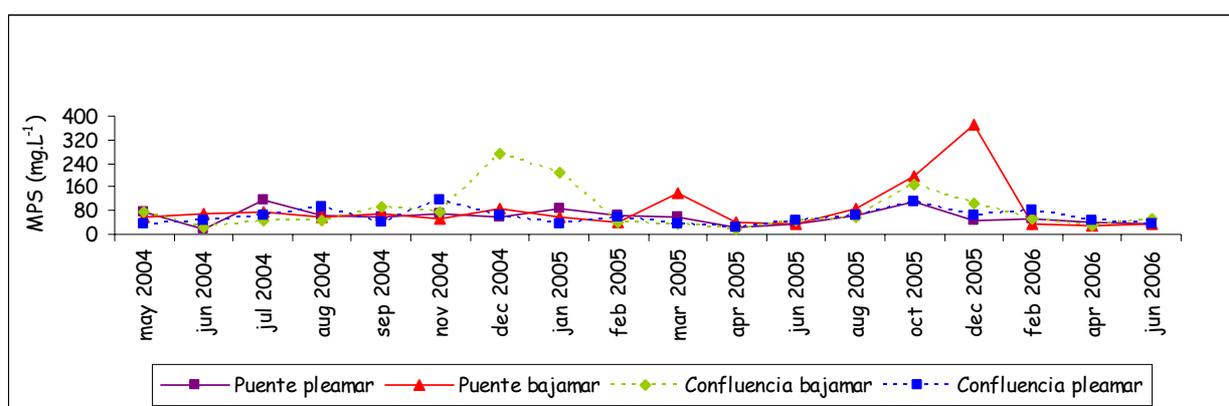


FIGURA II.16. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE MPS (mg.L^{-1}) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

II.3.4- Metales pesados en material particulado en suspensión (MPS)

La distribución temporal de cada uno de los metales pesados en MPS estudiados se muestra en las *Figuras II.17-24*. En la *Tabla II.8* se muestran los rangos de concentraciones encontrados en ambas Estaciones de muestreo durante todo el período de estudio.

Las concentraciones de **Cd en MPS** fueron muy fluctuantes a lo largo del período de estudio (*Figura II.17*). Los valores mínimos presentes estuvieron por debajo de los valores detectables, mientras que las concentraciones máximas fueron cercanas a los $60 \mu\text{g.g}^{-1}$. Las concentraciones en ambas estaciones de muestreo fueron en general similares, al igual que los valores en pleamar y bajamar de un mismo ciclo

de marea, aunque se presentaron algunas excepciones en donde los valores presentaron mayor variación. No se observó un patrón de comportamiento en función del tiempo.

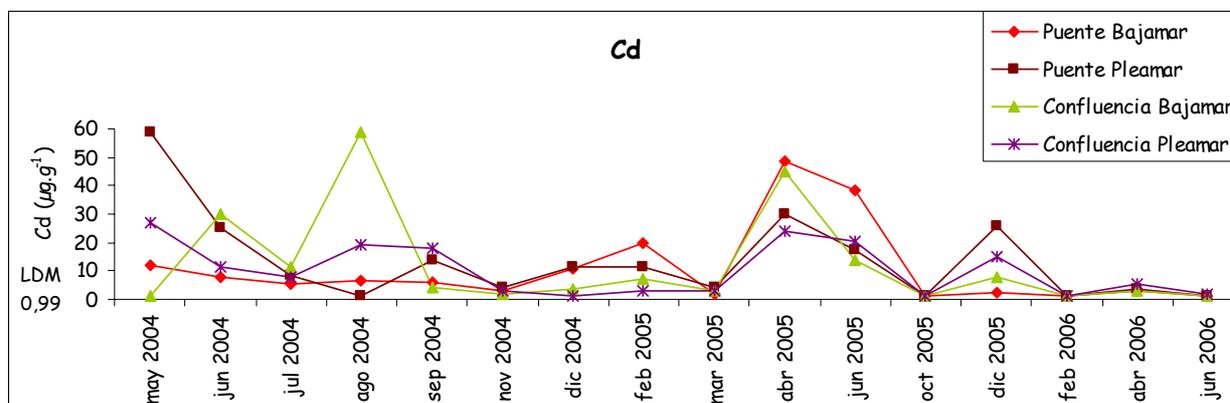


FIGURA II.17. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Las concentraciones de **Cu en MPS** (*Figura II.18*) fueron extremadamente fluctuantes a lo largo del período de estudio. Durante el primer año, se presentaron valores muy altos, con picos máximos de $\sim 20.000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ durante los meses de agosto y septiembre de 2004. Estos altos valores se presentaron en ambas estaciones de muestreo. También mostraron ser muy fluctuantes en función a los estados mareales, aunque no mostraron un patrón característico en relación con esos ciclos. En cambio, durante el segundo año de estudio, los valores fueron, en la mayoría de los casos, nd. No se observó ningún patrón de comportamiento temporal.

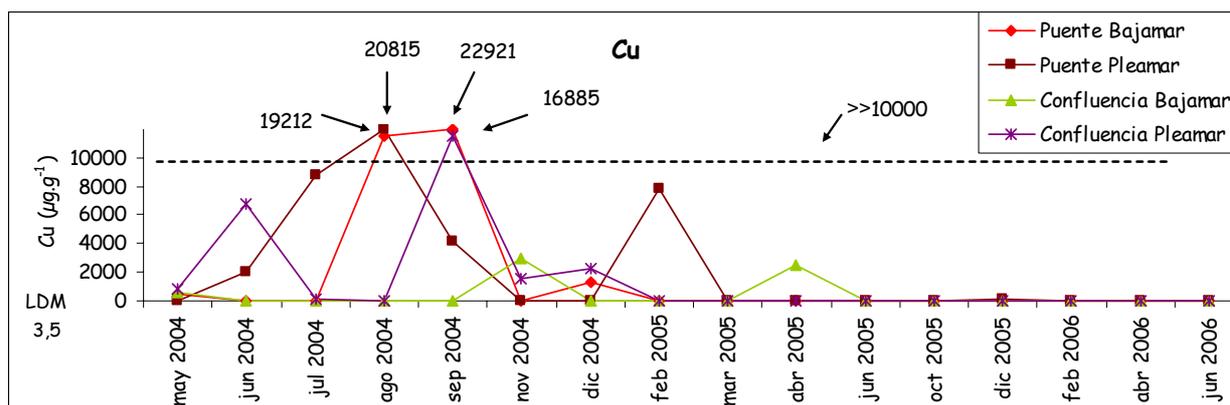


FIGURA II.18. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cu EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los valores de **Pb en MPS** también mostraron ser muy fluctuantes. Esto es muy esperable, ya que la cantidad y calidad de MPS también es muy fluctuante y depende de factores externos (viento, lluvias, actividades en la cuenca, entre otros) (Figura II.19). En general, el comportamiento en ambas estaciones de muestreo fue similar, al igual que las concentraciones durante el mismo ciclo mareal. Se presentaron 4 picos de concentraciones máximas con valores de 342, 116, 171 y 190 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en los meses de junio y septiembre de 2004 y junio y diciembre de 2005, respectivamente. También se registraron valores nd. Con respecto a este metal, no se observó ningún comportamiento temporal.

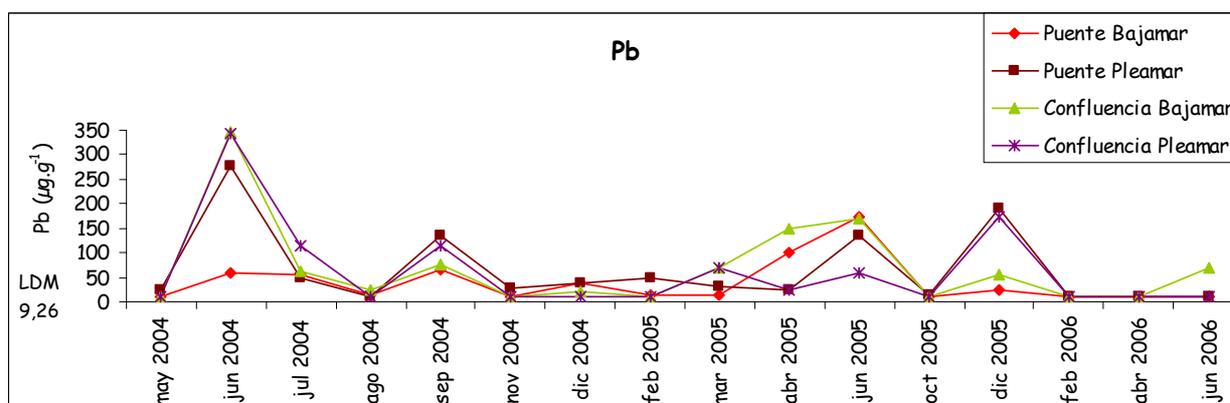


FIGURA II.19. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Pb EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Al igual que el Cu, los niveles de **Zn en MPS** durante el primer año de estudio presentaron niveles extremadamente altos. La máxima concentración encontrada fue de $16922 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el mes de agosto de 2004 durante la bajamar en la Estación Puente. Además, también se presentaron valores entre $1000\text{-}3000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ durante el primer año en ambas estaciones. El comportamiento en ambas estaciones de muestreo fue muy diferente. También presentaron grandes diferencias los valores entre bajamar y pleamar de un mismo ciclo de marea. Durante el segundo año de estudio, los niveles fueron en general, nd, aunque nuevamente se observó un pico de concentración en el mes de junio de 2006 (*Figura II.20*).

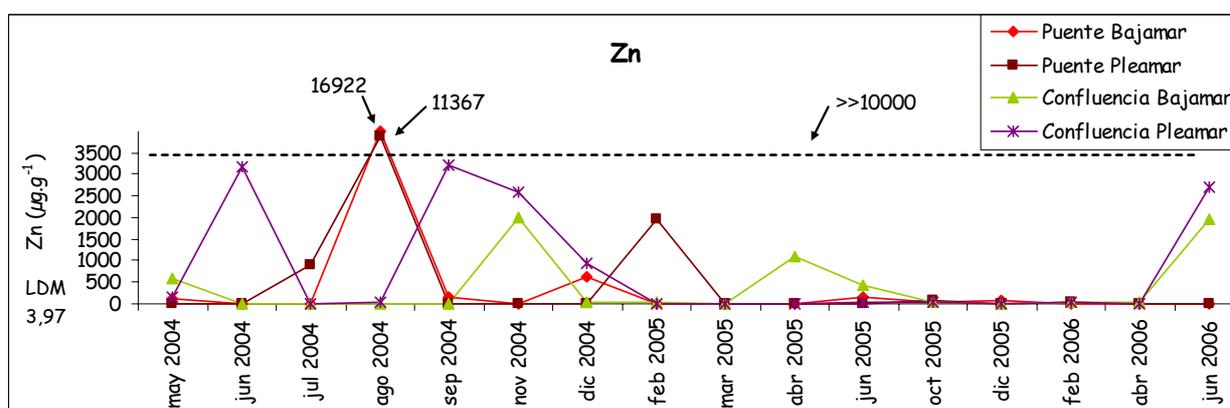


FIGURA II.20. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Zn EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Al igual que el Cu y el Zn, el **Ni en MPS** presentó valores extremadamente altos durante el primer año de estudio (*Figura II.21*). El pico máximo de concentración se presentó en el mes de agosto de 2004, con un valor de $16327 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en la Estación Puente. Otro pico de 2518 se observó en el mes de septiembre de 2004 en la misma estación. El comportamiento en ambas estaciones de muestreo fue muy diferente, al igual que el comportamiento en relación con los ciclos mareales. Se presentaron valores muy diferentes entre pleamar y bajamar de un mismo ciclo de marea. Durante el segundo año de estudio, los valores encontrados fueron cercanos al LDM.

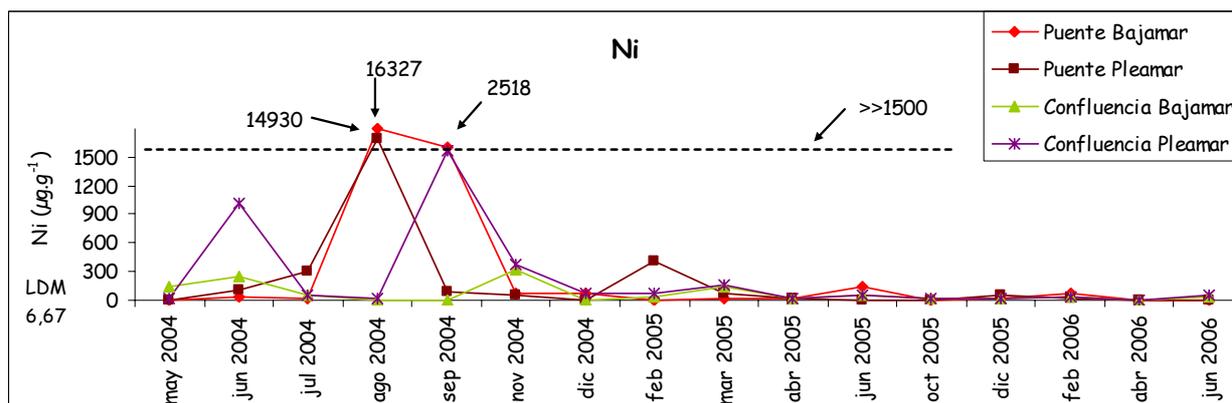


FIGURA II.21. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Ni EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los valores de Fe en MPS fueron muy altos (Figura II.22), los cuales presentaron una gran variación a lo largo del período de estudio. Las concentraciones en ambas estaciones de muestreo en algunos casos fueron similares y en otros fueron diferentes. Las concentraciones fluctuaron entre nd-~55 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. No se observó ningún patrón de comportamiento temporal.

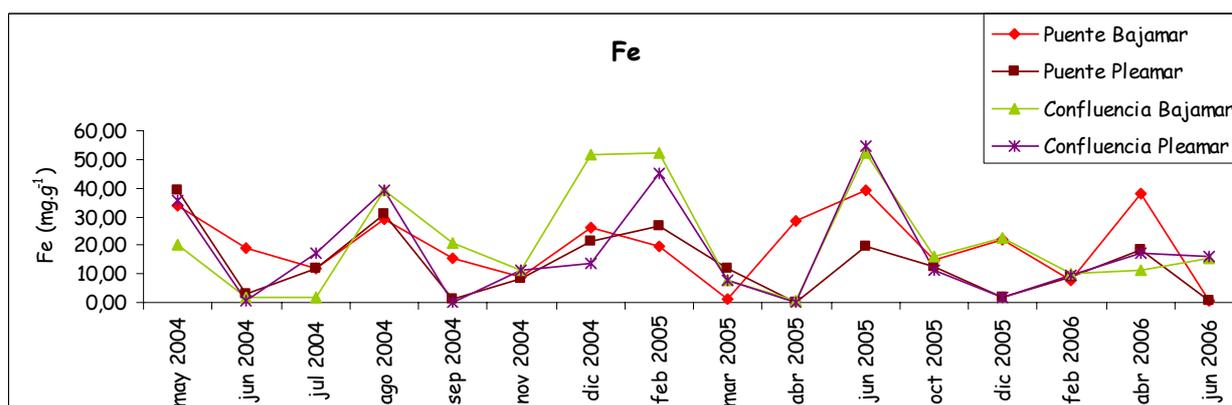


FIGURA II.22. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Fe EN MPS ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Los valores de **Cr en MPS** presentaron variaciones a lo largo del tiempo en ambas estaciones de muestreo (*Figura II.23*). Los valores fluctuaron desde concentraciones nd hasta valores cercanos a 60 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. No se observó ningún comportamiento con relación al tiempo.

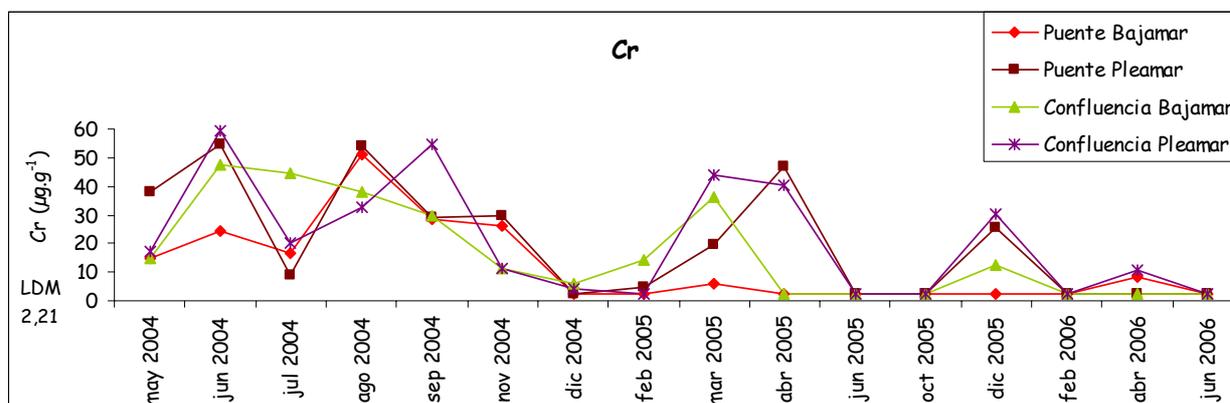


FIGURA II.23. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Cr EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Para finalizar, las concentraciones de **Mn en MPS** también presentaron grandes variaciones (*Figura II.24*). Se observaron dos picos de concentraciones máximas con valores de 1947 y 2415 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en los meses de junio de 2004 y octubre de 2006, respectivamente. Las concentraciones presentes durante el segundo año de muestreo fueron mayores a las concentraciones del primer año, en donde los valores fueron, en general, cercanos al LDM. No se observó ningún comportamiento de este metal con relación al tiempo. El comportamiento en ambas estaciones de muestreo fue similar, al igual que los valores entre los ciclos de marea.

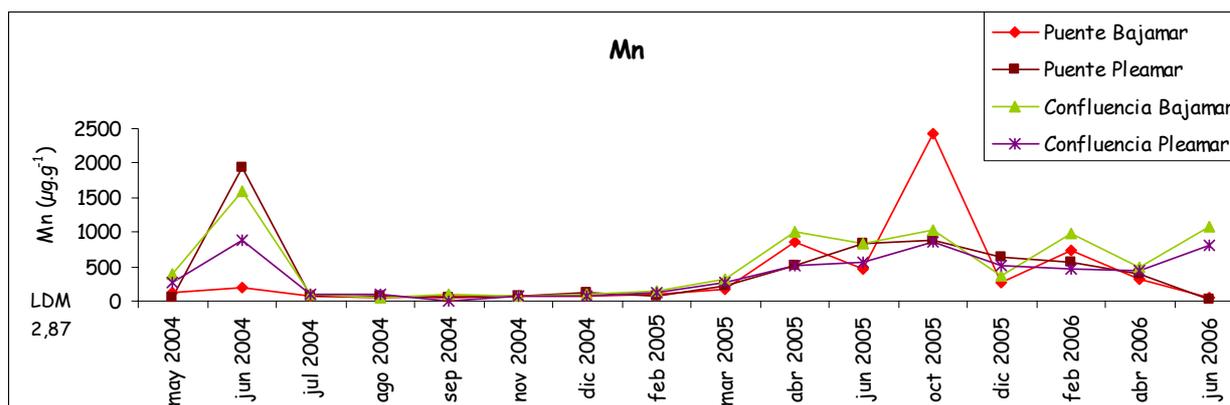


FIGURA II.24. DISTRIBUCIÓN MENSUAL DE LAS CONCENTRACIONES DE Mn EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) DURANTE EL PERÍODO MAYO 2004-JUNIO 2006 EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

Las concentraciones de los metales en MPS estudiados en la laguna costera de Mar Chiquita no presentaron en ningún caso un patrón de comportamiento particular en función al tiempo ni al ciclo de marea. En general, el comportamiento en ambas estaciones de muestreo fue similar. Los metales pesados Cu, Zn, Mn, Ni y Pb presentaron picos de concentración muy altos.

TABLA II.8: RANGOS DE CONCENTRACIONES DE METALES EN MPS ENCONTRADOS EN LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO MAYO 2004-JUNIO 2006.

Estación	Confluencia		Puente	
	pleamar	bajamar	pleamar	bajamar
Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	nd-27,25	nd-58,64	nd-58,64	nd-48,39
Cu ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	nd-16885	nd-2976,56	nd-20815	nd-22921
Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	nd-342,16	nd-345,84	nd-276,34	nd-173,23
Zn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	nd-3226,67	nd-2008,51	nd-11367	nd-16922
Fe ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	0,049-54,68	0,44-52,01	0,049-39,40	0,98-39,38
Ni ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	13,89-1572,31	nd-369,35	nd-14930	nd-16327
Cr ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	nd-59,36	nd-47,68	nd-54,79	nd-50,75
Mn ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	2,87-889	60,15-1585,58	60,15-1947,23	39,36-2415,88

II.3.5- Relaciones entre metales pesados estudiados

Debido a que muchos metales pesados pueden originarse de fuentes similares, y además poseer reactividades similares tanto con partículas biológicas como con no biológicas, es probable que algunos de estos elementos posean distribuciones cercanamente relacionadas con las de otro elemento.

En ambas estaciones de muestreo, cada una de las concentraciones de metales pesados disueltos y en MPS se correlacionó con cada uno de los otros elementos en la misma matriz para evaluar la significancia de su co-asociación.

En la *Tabla II.9* se presentan los resultados de las correlaciones. Se observa una fuerte correlación entre los metales Cu, Ni y Zn en MPS en ambas estaciones de muestreo. Además, también se presentaron correlaciones significativas entre estos 3 elementos y el Cr. Ninguno de los metales en MPS estudiados presentó correlación con la concentración de MPS presente.

Los metales disueltos no presentaron las mismas correlaciones que las que se presentaron en los metales en MPS. En este caso, la cantidad de relaciones encontradas entre los metales fue menor. En ambas estaciones el Pb mostró estar fuertemente relacionado con el Zn, mientras que sólo en la Estación Confluencia el Pb se correlacionó con el Fe. En la Estación Puente, además, el Pb mostró estar correlacionado con el Cu. En ninguno de los casos se observó ninguna correlación entre los metales disueltos y la concentración de MPS.

TABLA II.9: MATRIZ DE CORRELACION (CORRELACION DE PEARSON) PARA CONCENTRACIONES DE METALES EN MPS Y MPS ($n = 38$) EN LAS ESTACIONES DE MUESTREO CONFLUENCIA Y PUENTE DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

	Estación Confluencia							Estación Puente								
	Cd _{MPS}	Cu _{MPS}	Pb _{MPS}	Zn _{MPS}	Ni _{MPS}	Fe _{MPS}	Cr _{MPS}	Mn _{MPS}	Cd _{MPS}	Cu _{MPS}	Pb _{MPS}	Zn _{MPS}	Ni _{MPS}	Fe _{MPS}	Cr _{MPS}	Mn _{MPS}
Cd _{MPS}	1								1							
Cu _{MPS}	0,112	1							-0,165	1						
Pb _{MPS}	0,321	0,28	1						0,494	-0,0371	1					
Zn _{MPS}	-0,0844	0,686	0,227	1					-0,14	0,719	-0,155	1				
Ni _{MPS}	0,038	0,946	0,42	0,726	1				-0,156	0,783	-0,151	0,978	1			
Fe _{MPS}	0,0796	-0,306	-0,304	-0,316	-0,0335	1			0,35	0,197	-0,102	0,297	0,283	1		
Cr _{MPS}	0,352	0,418	0,53	0,45	0,54	-0,372	1		0,202	0,496	0,253	0,505	0,551	-0,0488	1	
Mn _{MPS}	0,076	-0,161	0,5	0,043	-0,086	-0,28	-0,165	1	0,101	-0,231	0,369	-0,178	-0,175	-0,144	0,0396	1
MPS	-0,307	0,0535	-0,261	-0,0259	-0,0587	0,139	-0,289		-0,253	-0,0236	-0,233	-0,0361	-0,0436	0,0550	-0,229	0,118

	Estación Confluencia							Estación Puente						
	Cd _{DIS}	Cu _{DIS}	Pb _{DIS}	Zn _{DIS}	Ni _{DIS}	Fe _{DIS}	Cr _{DIS}	Cd _{DIS}	Cu _{DIS}	Pb _{DIS}	Zn _{DIS}	Ni _{DIS}	Fe _{DIS}	Cr _{DIS}
Cd _{DIS}	1							1						
Cu _{DIS}	-0,0316	1						-0,124	1					
Pb _{DIS}	-0,0480	0,206	1					-0,0594	0,414	1				
Zn _{DIS}	-0,0745	0,151	0,702	1				0,0375	0,380	0,572	1			
Ni _{DIS}	-0,0948	-0,0733	-0,0394	0,493	1			-0,125	-0,00935	-0,0639	0,0674	1		
Fe _{DIS}	-0,133	-0,0153	0,630	0,0976	-0,193	1		0,315	-0,0725	-0,0146	0,00977	-0,0290	1	
Cr _{DIS}	-0,132	-0,0354	0,249	0,153	-0,0993	0,0346	1	-0,236	0,204	0,149	0,155	0,0869	-0,0156	1
MPS	-0,00964	0,325	-0,0139	-0,144	-0,105	0,0666	-0,0720	-0,0242	0,181	0,241	0,0906	-0,09	0,175	-0,229

* valores en **negrita** indican correlación significativa ($p \leq 0,05$).

II.3.6- Partición de metales traza entre la fase particulada y la fase disuelta

El coeficiente de partición (K_D), brinda información empírica de los efectos combinados de todas las reacciones heterogéneas que actúan sobre la distribución de los elementos entre la fase particulada y la fase disuelta.

Un valor elevado de K_D indica una mayor afinidad de un elemento para ser asociado y transportado en la fase sólida. Por lo tanto, los K_D son de fundamental relevancia para los modelados geoquímicos y para la evaluación de los procesos de contaminación en estuarios y aguas costeras (Turner, 1996; Veselý *et al.*, 2001).

El cálculo de los K_D (ml.g^{-1}) se realizó de la siguiente manera:

$$K_D = \frac{\text{Concentración total del metal en MPS } (\mu\text{g.g}^{-1})}{\text{Concentración de metal disuelto } (\mu\text{g.ml}^{-1})}$$

En la Estación Puente, los K_D oscilaron entre $4,12 \times 10^3$ y $2,7 \times 10^5$ para el Cd, 52 y $1,7 \times 10^5$ para el Cu, $2,1 \times 10^2$ a $7,3 \times 10^5$ para el Pb, 23 a $1,06 \times 10^7$ para el Zn, $2,1 \times 10^2$ a $1,08 \times 10^6$ para el Ni, $2,4 \times 10^3$ a $7,3 \times 10^6$ para el Fe y 67 a $5,7 \times 10^4$ para el Cr. En la Estación Confluencia los valores oscilaron entre $1,4 \times 10^2$ a $2,51 \times 10^5$ para el Cd, $3,1 \times 10^2$ a $4,06 \times 10^4$ para el Cu, $5,4 \times 10^2$ a $3,9 \times 10^5$ para el Pb, 63 a $3,6 \times 10^5$ para el Zn, $2,4 \times 10^2$ a $1,9 \times 10^6$ para el Ni, $2,4 \times 10^3$ a $5,1 \times 10^6$ para el Fe y 62 a $6,1 \times 10^4$ para el Cr.

Estos resultados sugieren que los metales que se encuentran unidos más débilmente al MPS son el Cu, Zn y el Cr, por lo que su asociación y transporte estaría más relacionado con la fase disuelta. Además, el Zn también demostró ser el más fuertemente unido en otras ocasiones, lo que indica importantes cambios en las condiciones físico-químicas asociadas. También presentaron una fuerte unión el Fe y el Ni.

Además, también se analizaron las correlaciones entre los K_D de cada metal con las concentraciones de MPS presentes. En este estudio, en ningún caso la correlación entre ambas variables fue significativa ($P \leq 0,5$).

II.4- DISCUSIÓN

Ninguno de los **metales disueltos** estudiados, tanto en AC como en AI, presentó una dinámica particular con respecto al estado de las mareas. Al igual que lo observado en el Capítulo I con respecto a los nutrientes, no existe un efecto notorio de las mareas que gobierne el comportamiento de estos elementos. Por lo tanto, existirían otros factores capaces de controlar la dinámica de los metales pesados, por ejemplo, los flujos de descarga de los tributarios, el drenaje continental modificado por las precipitaciones, los vientos, la resuspensión de sedimentos, entre otros.

Trabajos previos han observado que, en algunas ocasiones, existe una estacionalidad en las concentraciones de metales presentes de acuerdo a la salinidad, la temperatura, los florecimientos (blooms) fitoplanctónicos, y/o el metabolismo microbiano. Sin embargo, en esta laguna no se presentó una dinámica temporal.

La comprensión de las causas que generan la variabilidad estacional en las concentraciones de los metales pesados disueltos en estuarios puede resultar complicada debido a las interrelaciones entre los factores potencialmente reguladores y las descargas antropogénicas. Las concentraciones de los metales pesados disueltos generalmente muestran relaciones empíricas con las descargas (Shiller, 1997).

En muchos casos se observa que durante un mismo ciclo mareal se producen grandes cambios en los niveles de metales presentes, con concentraciones que pueden variar desde nd hasta concentraciones muy altas. Sin embargo, estos cambios en las concentraciones no presentan un patrón de comportamiento definido ya que en muchos casos las mayores concentraciones se presentaron durante la pleamar y los niveles no detectables durante la bajamar y en otros casos este comportamiento fue completamente opuesto. Esto indica que durante un mismo ciclo mareal, en la laguna se producen cambios en las fuentes de metales o en los procesos que los retienen o direccional.

Los niveles de **Cd disuelto** tanto en AC como en AI fueron, durante la mayor parte del tiempo de estudio, menores al LDM ($0,18 \mu\text{g.L}^{-1}$). Sin embargo, en algunas ocasiones se presentaron concentraciones mayores cercanas a $1 \mu\text{g.L}^{-1}$. En cuanto a las

concentraciones de **Cu disuelto**, los valores fueron muy variables durante todo el estudio. En general, estas concentraciones tan altas no han sido registradas en otros estuarios del mundo. Si bien las concentraciones de **Pb disuelto** en muchas ocasiones fueron nd, en muchas otras se presentaron valores altos, tanto en AC como en AI. La máxima concentración fue de 1458 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Los niveles de **Zn disuelto** presentes en esta laguna fueron extremadamente variables en el tiempo, así también como muy variables durante los ciclos de mareas, con niveles desde nd a concentraciones mayores a 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para un mismo ciclo de marea. Las concentraciones de **Ni disuelto**, presentaron grandes variaciones en el tiempo, con valores de entre nd y 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$. En general, las concentraciones de **Fe disuelto** fueron relativamente bajas, lo que resulta esperable considerando los muy bajos valores de coeficiente de solubilidad (K_{ps}) de este metal. Las concentraciones no superaron los 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en la mayoría de los casos.

En la *Tabla II.10* se muestran las concentraciones de metales disueltos en otros estuarios del mundo, todos ellos presentan impactos de actividades antrópicas y muestran diversos grados de contaminación. Se menciona el estuario de Port Jackson, un estuario micromareal ubicado en Australia, el cual presenta contaminación producto de un gran desarrollo urbano e industrial en sus alrededores. Por otra parte, se menciona el estuario de Changjiang (China) en cuya cuenca de drenaje se desarrolla una intensa actividad agrícola. La laguna costera Términos, en México, está ubicada en una región de extracción de petróleo en México. Se menciona también la laguna Alvarado, al sur del Golfo de México, cuyos autores mencionan que existen diversas fuentes antrópicas de metales pesados. Finalmente, también se describen las concentraciones presentes en el estuario de Bahía Blanca (Argentina), en donde se combina una intensa actividad portuaria e industrial con una gran actividad urbana.

Las comparaciones realizadas con los mencionados estuarios permiten sostener que esta laguna costera presenta concentraciones de metales pesados muy altas, con concentraciones esporádicas extremas en esta fase disuelta. En general, las concentraciones presentes en la laguna Mar Chiquita fueron mayores a los estuarios

descriptos. Las concentraciones disueltas de Cu y Zn son las que presentaron las mayores concentraciones con respecto a estos estuarios contaminados.

Tabla II.10: CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS DISUELTOS ($\mu\text{g.L}^{-1}$) EN OTROS ESTUARIOS DEL MUNDO

Area de estudio	Metales disueltos ($\mu\text{g.L}^{-1}$)							Referencias
	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe	Ni	Cr	
Mar Chiquita	nd-7,1	nd-1000,23	nd-850	nd-1001,77	nd-227,15	nd-79,84	nd-35,25	Este trabajo
Estuario de Bahía Blanca	nd-3,41	0,65-13,40	nd-7,53	nd-56,56	nd-3,49	nd-3,49	nd-5,86	Botté, 2005
Laguna de Terminos lagoons	2-93	3-77	-	3-97	181-1,201	6-399	-	Vazquez <i>et al.</i> , 1999
Laguna de Alvarado	1,44-2,97	0,19-61,4	0,40-116	-	0,11-0,98	-	2,82-6,79	Vazquez <i>et al.</i> , 1998
Estuario de Changjiang	0,00241-0,04117	1,221-1,682	0,475-0,710	0,997-1,794	6,06-35,86	1,027-1,651	-	Wangy Liu, 2003
Estuario de Port Jackson	0,01-0,10	0,93-2,55	-	nd-9,66	-	0,18-1,61	-	Hatje <i>et al.</i> , 2003

A diferencia de los metales disueltos, los **metales en sedimento** presentaron, en la mayoría de los casos, niveles por encima de las concentraciones detectables, con muy pocas excepciones. Ninguno de los metales estudiados presentó un patrón de comportamiento con relación al tiempo ni al ciclo de marea. Las concentraciones entre ambas estaciones de muestreo no presentaron grandes diferencias, al igual que las concentraciones con respecto a los estados mareales dentro de un mismo ciclo de marea.

Al igual que ha sido reportado en otros estuarios del mundo, las concentraciones de metales en sedimentos fueron entre 3-5 órdenes de magnitud mayor a las concentraciones disueltas (Bryan y Langston, 1992).

En la **Tabla II.11** se presentan las concentraciones reportadas por otros autores en distintos estuarios del mundo con diversos grados de contaminación, en todos estos estuarios se presentan distintas fuentes de metales pesados. Estos son: el Río de Mae Klong, el estuario del Río de la Plata, Estuario de Severn, Laguna de Venecia, Estuario de Bahía Blanca, Laguna de Términos y Estuario Blackwater.

Resulta necesario considerar que las comparaciones entre los contenidos de metales en sedimentos de diversos estuarios son relativas, ya que una comparación exhaustiva de los datos requiere del conocimiento sobre la composición granulométrica y características propias del sedimento de cada lugar de estudio, al igual que el contenido de materia orgánica, características hidrográficas del estuario, presión antrópica, entre otros factores.

TABLA II.11: CONCENTRACIONES DE METALES EN SEDIMENTOS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) SUPERFICIALES EN OTROS ESTUARIOS DEL MUNDO.

estuario	Metales en sedimentos								Referencias
	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe	Ni	Cr	Mn	
Laguna costera de Mar Chiquita	0,86-2,91	nd-21,78	nd-33,13	5,10-47,68	nd-47900	5,34- 44,39	0,34- 8,45	58,76- 116,06	Este estudio
Río de Mae Klong	-	7,53- 363,64	-	25,98- 1454,78	6970- 245850	10,09- 885,24	30,10- 1104,60	330- 12270	<i>Censi et al., 2006</i>
Río de la Plata	-	-	-	26-99	-	-	16-27	221-489	<i>Bilos et al., 1998</i>
Estuario de Severn	0,12	5,31	24,7	79	-	9,41	21,4	-	<i>Duquesne et al., 2006</i>
Laguna de Venecia	0,3-70,2	-	21-929	101-8295	-	-	-	-	<i>Belucci et al., 2002</i>
Estuario de Bahía Blanca	0,73-1,09	11,81- 17,67	12,72- 20,70	35,40- 65,43	16490- 29470	9,24- 18,91	6,66- 12,88	89,69- 433,72	<i>Botté, 2005</i>
Laguna de Terminos	1,4	7,4	33,9	20,4	-	50,9	47,2	-	<i>Ponce-Velez y Botello, 1991</i>
Estuario Blackwater	0,34	24	42	89	34500	33	48	210	<i>Emmerson et al., 1997</i>

Las concentraciones de los **metales en MPS** estudiados en la laguna costera de Mar Chiquita en ningún caso presentaron un patrón de comportamiento particular en función al tiempo y en función al ciclo de marea. En general, las concentraciones en ambas estaciones de muestreo fueron similares.

La **Tabla II.11** muestra los valores presentes de metales en MPS en otros estuarios del mundo, los cuales presentan un cierto grado de contaminación. Se mencionan los niveles presentes en el estuario del Río Danshuei, en Taiwán, en el que descargan los desechos urbanos de una gran población. Se menciona también el estuario de Conwy, Inglaterra, donde la mayor parte del área es rural, aunque también hay poblaciones, residuos de minas, e industrias procesadoras de metales. Se hace referencia al estuario del Río Hudson, dominado por el área metropolitana de la ciudad de Nueva York y en el cual históricamente se registró contaminación por metales pesados. El estuario del Río de la Plata (Argentina), el segundo río más grande de Sudamérica, en donde reside una inmensa población y se desarrolla una intensa actividad portuaria e industrial. Por otro lado, el Río Mae Klong desemboca en el Golfo de Taiwán, y en cuya área se desarrolla una de las más importantes industrias de estaño de Asia. El estuario de Severn, es uno de los estuarios más grandes de Inglaterra, el cual posee varias fuentes de contaminación por metales pesados como industrias químicas, refinerías y en cuya área se desarrollan grandes poblaciones urbanas. Finalmente, el estuario del Río Sheldt, en Francia, presenta un elevado grado de contaminación debido a que presenta numerosas descargas industriales, domésticas y de actividades agrícolas.

Las comparaciones realizadas con otros estuarios del mundo indican que la presencia de metales en MPS es alta en relación a otros estuarios que revisten cierto grado de contaminación. Sin embargo, los metales que presentaron niveles extremadamente altos comparados con los estuarios descriptos en este trabajo fueron el Cu, Pb, Ni y Mn.

TABLA II.12: CONCENTRACIONES DE METALES EN MPS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PRESENTES EN OTROS ESTUARIOS DEL MUNDO.

Estuario	Metales en MPS								Referencias
	Cd	Cu	Pb	Zn	Fe	Ni	Cr	Mn	
Laguna costera de Mar Chiquita	nd-58,64	nd-22921,37	nd-345,84	nd-16922,69	48,71-54684,37	nd-16327,91	nd-59,36	nd-2415,88	Este estudio
Río de la Plata	-	7,4-109	-	-	-	-	75-408	525-1341	Bilos <i>et al.</i> , 1998
Río Danshuei	0,19-2,34	52-745	40-179	-	-	39-347	-	-	Jiann <i>et al.</i> , 2005
Estuario de Conwy	58 \pm 10	177 \pm 94	546 \pm 536	554 \pm 185	32000 \pm 2700	282 \pm 165	86 \pm 26	1300 \pm 146	Zhou <i>et al.</i> , 2003
Río Hudson	0,93 \pm 0,06	185 \pm 11	254 \pm 23	2543 \pm 234	-	-	-	-	Feng <i>et al.</i> , 2002
Río Mae Klong	-	1,14-22,27	-	7,66-339,54	570-76500	nd-55,39	7,77-85,14	18,33-724,12	Censi <i>et al.</i> , 2006
Estuario Scheldt	<0,5-13,9	10-288	12-279	32-1196	-	3-66	20-306	136-1347	Zwolsman y van Eck, 1999
Estuario de Severn	0,32-0,49	29,8-37	65,4-77,5	191-238	-	31,2-36,9	67,2-81,3	-	Duquesne <i>et al.</i> , 2006

Con respecto a las **relaciones entre los metales en MPS**, el Cu, Ni, Zn y Cr presentaron una fuerte correlación. También se observaron relaciones entre otros elementos como el Pb y Mn, y el Fe y Cr, aunque en estos casos las relaciones fueron menores. Esto estaría indicando una fuente u origen común de estos elementos. En el caso de los metales disueltos, las correlaciones fueron otras. En ambas estaciones de muestreo se observó una alta correlación entre el Pb y el Zn. Además, el Pb disuelto también mostró correlaciones con otros elementos, pero fueron diferentes en cada estación. En ninguno de los metales disueltos ni en MPS se observaron correlaciones con las concentraciones de MPS por lo que no se refleja el rol de los procesos físicos, como la mezcla de agua y la resuspensión de sedimentos superficiales, en el ciclo de estos elementos en el agua. Contrariamente a lo observado en Mar Chiquita, en el estuario Port Jackson se observaron relaciones entre el MPS y las concentraciones de Mn y Ni disueltos (Hatje *et al.*, 2003).

Las desembocaduras de ríos, estuarios y zonas costeras actúan como trampas del material particulado terrígeno, donde el 90% del MPS transportado por los ríos es depositado, y el 10% es transportado hacia el mar (Martin *et al.*, 1989). Las **concentraciones de MPS** a lo largo del período de estudio presentaron valores entre $\sim 20\text{-}270\text{ mg L}^{-1}$), las cuales variaron en aproximadamente un orden de magnitud en ambas estaciones de muestreo. No se observó ninguna tendencia particular en términos de estados de mareas ni en términos temporales. Esto podría sugerir que la marea no influye en el comportamiento de este parámetro, aunque sería necesario realizar mediciones a lo largo de todo el ciclo de marea para poder obtener conclusiones más certeras. Tampoco está influenciado por los períodos de mayor o menor descarga de los tributarios, los cuales transportan material terrígeno hacia la laguna lo cual puede producir cambios en las concentraciones de MPS.

Los valores de K_D calculados para cada metal demostraron ser muy fluctuantes a lo largo del período de estudio. Para ninguno de los metales estudiados los K_D demostraron estar correlacionados con las concentraciones de MPS. En trabajos previos en otros estuarios del mundo se observó una interesante relación entre los valores de K_{DS} y las concentraciones de MPS. De manera tal que las relaciones indicaban que a medida que las concentraciones de MPS aumentan, se

observa una disminución de los valores de K_{DS} (Benoit *et al.*, 1994; Turner, 1996). Esto estaría relacionado con la mayor proporción de partículas de mayor tamaño cuando las concentraciones de MPS aumentan, lo cual implica una menor proporción de superficie para fijar metales.

A partir de los resultados observados, el factor que parecería tener un mayor efecto sobre la distribución de MPS es la resuspensión de sedimentos generado por las corrientes y los vientos que se presentan en esta laguna somera. Además, la poca profundidad de esta laguna también estaría colaborando en la remoción de metales desde el sedimento hacia el agua de columna.

Las concentraciones de MPS fueron similares a las presentes en los estuarios de Changjiang (Wang y Liu, 2003) y de Guadiana (Caetano *et al.*, 2006), mientras que fueron mayores a las presentes en el estuario de Port Jackson (Hatje *et al.*, 2003).

Las altas concentraciones de metales encontradas en esta laguna costera se deberían principalmente al fuerte aporte terrestre derivado de las actividades humanas desarrolladas dentro de la cuenca y al poco volumen de agua que posee esta laguna, de forma tal que el efecto de dilución no se da de manera intensa.

La agricultura, además de ser fuente de compuestos inorgánicos como fosfatos y nitratos, también es una potencial fuente de metales pesados (Micó *et al.*, 2006; Kidd *et al.*, 2007, Kabata-Pendias, 1995) ya que éstos forman parte de la composición química de los agroquímicos. Numerosos trabajos han observado una fuerte relación entre la presencia de metales pesados en el ambiente y las actividades agrícolas. En el Río Guadalquivir, España, se observó que existe una relación entre la presencia de los metales pesados, Cu, Zn y especialmente el Ni, con las actividades agrícolas. Estas relaciones entre algunos metales podrían deberse a que tienen una misma fuente -los agroquímicos aplicados en la cuenca de esta laguna-, y por lo tanto su aplicación en determinados momentos durante las diferentes etapas de los cultivos podría influir en las concentraciones que se observan en la laguna (Mendiguchía *et al.*, 2007).

II.5- CONCLUSION

Este es el primer estudio sistemático realizado en esta laguna costera sobre la presencia de metales pesados en forma disuelta, particulada y en sedimentos.

El MPS no mostró ninguna tendencia definida en sus contenidos de metales con relación al ciclo mareal. Esto indica que la marea no es un factor que posea un efecto predominante sobre la dinámica de estos elementos en el MPS. Este resultado no es inesperado, teniendo en cuenta que el MPS de este ambiente demuestra ser predominantemente de origen terrestre (a partir de sus variaciones a lo largo del ciclo estudiado), por lo que la marea sólo podría condicionar su re-distribución.

Tampoco los metales demostraron desarrollar una tendencia temporal particular ni en relación con el ciclo de marea en ninguna de las matrices estudiadas.

Las comparaciones realizadas con otros estuarios del mundo que presentan diversos grados de contaminación, permiten sostener que esta laguna costera presenta concentraciones de metales pesados, especialmente Zn, Ni, Cu y Pb muy altas, con concentraciones esporádicas extremas en la fase disuelta. Teniendo en cuenta lo efímero que resulta el equilibrio de disolución de los metales en ambientes acuáticos y su rápida transferencia hacia los otros compartimientos del sistema (MPS, sedimentos, organismos) (Salomons y Förstner, 1988), estos eventos de altas concentraciones que desaparecen en períodos muy cortos son claramente interpretables. Además, la mayoría de los metales estudiados estuvieron presentes en niveles detectables durante la mayor parte del año, lo cual indica la presencia de fuentes continuas (o casi continuas) de este tipo de contaminantes dentro del área de estudio. Por lo tanto, se puede concluir que este ambiente presenta niveles de metales pesados moderados a lo largo de todo el año, y, que ocasionalmente se presentan concentraciones altas. Esto permite sugerir que esta laguna costera presenta para la mayoría de los metales estudiados un grado de contaminación moderada en relación con los metales pesados estudiados.

Asimismo se observaron fuertes asociaciones entre las concentraciones de ciertos metales, especialmente entre Cu, Ni y Zn, lo cual sugiere que fuentes y/o

procesos geoquímicos similares controlan la presencia y distribución de estos metales.

De esta forma, se puede concluir que las actividades que se desarrollan en la cuenca de esta laguna costera, especialmente las actividades agrícolas, están impactando este ambiente.

Capítulo III

APORTE DE NUTRIENTES Y METALES PESADOS POR
LOS TRIBUTARIOS DE LA
LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

**Capítulo III.- APORTE DE NUTRIENTES Y METALES PESADOS POR LOS
TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA**

III-1- INTRODUCCIÓN

Los estuarios y ecosistemas costeros son complejos, únicos y frágiles. Los aportes de aguas dulces y nutrientes desde los ríos son ecológicamente importantes para el funcionamiento de estos ecosistemas. Cualquier cambio en estos y otros procesos puede llegar a causar impactos cruciales en sus funciones físicas y ecológicas normales. El aumento de los disturbios humanos ha empeorado esta situación en los últimos tiempos (Fan y Huang, 2008).

Además, los estuarios son una fuente de materiales de origen continental hacia los océanos. Su funcionamiento depende en gran medida de la dinámica natural de los aportes de sus tributarios. Sin los adecuados aportes, flujos estacionales, y calidad de las aguas desde afluentes continentales, el mismo se vería profundamente modificado (Benson, 1981). El volumen de agua y el tiempo de descarga de muchos ríos fueron alterados en gran medida en las últimas décadas, debido a la construcción de diques para la producción de energía hidroeléctrica, diversos usos industriales, agrícolas y domésticos del agua, y a la expansión humana incontrolada relacionada con el rápido crecimiento poblacional (Wilber y Bass, 1998; Lavín y Sánchez, 1999; Syvitski *et al.*, 2005). Los cambios producidos en esos ríos afectaron significativamente las condiciones hidrográficas, los patrones de temperatura y salinidad, los nutrientes, el oxígeno disuelto (Skiris y Lascaratos, 2004), y, en consecuencia, la productividad primaria, la estructura de la comunidad biótica y la dinámica trófica de los sistemas estuariales (Grange *et al.*, 2000, Kennish, 2002; Kimmel y Roman, 2004). Resulta ampliamente conocido que este tipo de cambios han traído efectos perjudiciales, como eutroficación, sedimentación o erosión, hipoxia y contaminación, así como pérdida de hábitat y de biodiversidad en muchos estuarios y zonas costeras del mundo (Grange *et al.*, 2000; Kennish, 2002;

Rodriguez *et al.*, 2001; Wilber y Bass, 1998). Muy pocos estuarios y sistemas costeros permanecen prístinos en todo el mundo en la actualidad.

La laguna costera Mar Chiquita fue declarada Reserva Mundial de Biosfera “Parque Atlántico Mar Chiquito” por MAB-UNESCO en abril de 1996. La Reserva MAB comprende la laguna (unas 5000ha, superficie que varía según las precipitaciones anuales) y los campos aledaños, de uso principalmente ganadero, que cubren en total unas 26488 ha. El límite oeste coincide con la Ruta Provincial N°11. Desde la ruta y hasta las vías del Ferrocarril Gral. Roca situado a unos 12 km al oeste, se extiende un área de 44709 ha, declarada Refugio de Vida Silvestre Provincial (RVS), y que podría actuar como área de amortiguación de la Reserva MAB (formalmente no reviste esa figura hasta el momento). En esta zona el uso agrícola es más importante, con un aumento que se ha dado especialmente en los últimos años, aunque la ganadería sigue siendo muy relevante (Maceira N. O. *et al.*, 2005).

Toda la cuenca de la laguna cubre alrededor de un millón de hectáreas (**Figura III.1**). Aportan 21 arroyos y canales artificiales que nacen en el Sistema de Tandilia, de los cuales los más importantes son el Vivoratá y El Dulce (**Figura III.2**).

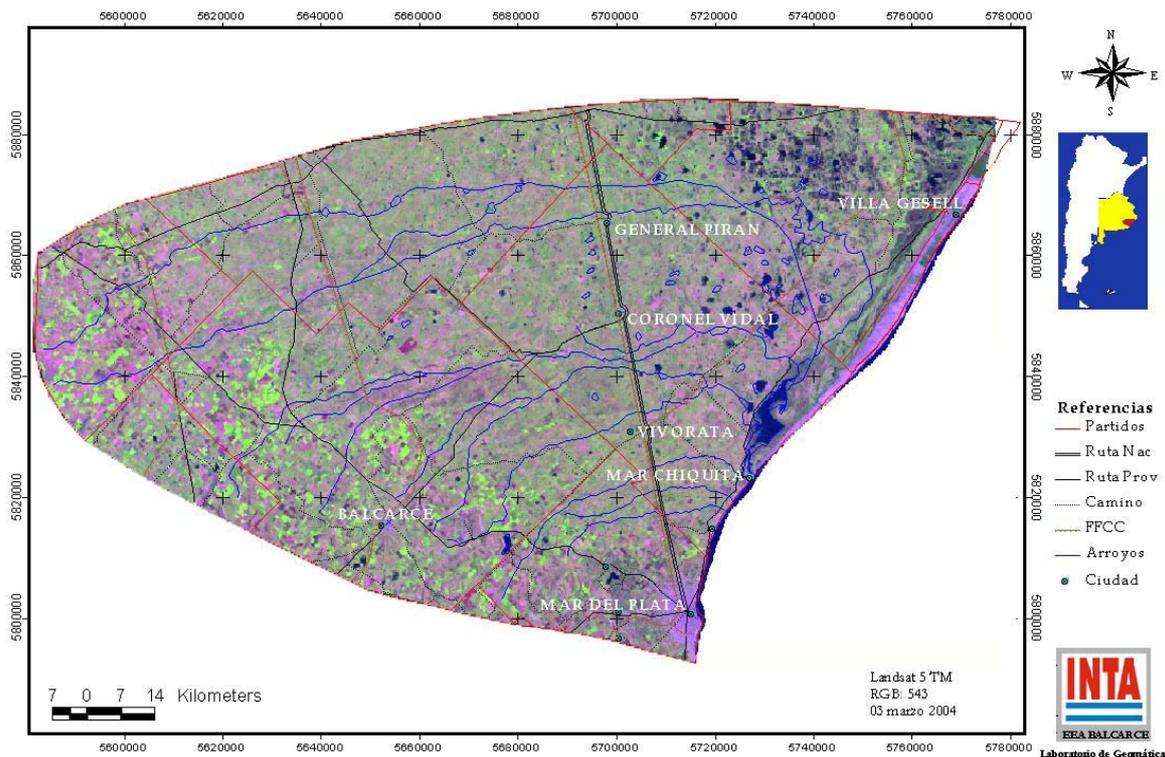


Figura III.1- CUENCA HIDROGRÁFICA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA (Maceira N. O. et al., 2005)

Entre los principales cursos de agua que desembocan en la laguna, de características poco caudalosos, se encuentran (Maceira N. O. et al., 2005, Reta et al., 2001):

- **Canal 5:** desagua en la laguna Mar Chiquita mediante la cañada del arroyo Chico o de las Gallinas. En este canal desembocan los Arroyos Las Chilcas, Napaleufú y Las Piedras, los cuales nacen en las sierras de Tandil. El Arroyo Las Chilcas desemboca en el origen del Canal 5 y su cuenca es de alrededor de 1123 km². El Arroyo Napaleufú desdobra su cauce dando origen al Arroyo Las Piedras, el cual desemboca en el Canal 5. La cuenca directa del Napaleufú es de 2151 km².
- **Cañada del Arroyo Chico o de las Gallinas:** es emisaria de la laguna La Argentina y la laguna del Maestro. A esta última le llegan del oeste las aguas del Arroyo Méndez que es la continuación del Arroyo Chico, el que a su vez se continúa hacia las nacientes del Arroyo Napaleufú.

-
- **Canal 7:** utilizado para el drenaje de precipitaciones. En él desembocan las lagunas Rincón de Marín y Los Talitas.
 - **Arroyo Vivoratá:** nace en las sierras vecinas a la ciudad de Mar del Plata, se alimenta de vertientes y principalmente de lluvias, y desagua cerca de la boca de la laguna de Mar Chiquita.
 - **Arroyos Grande y Dulce:** ambos nacen en las sierras de Balcarce. El Arroyo Grande tiene varios tributarios, principalmente en su margen derecha y atraviesa algunas lagunas. La cuenca del arroyo Grande es de 3054 km², mientras que la del Dulce es de 880 km². El Arroyo Dulce desagua en la laguna Nahuel Rucá, y de esta nace el **Arroyo Sotelo**, al cual además llega el Arroyo de los Huesos.

Las cotas de altitud en el área serrana alcanzan en algunos casos los 500 msnm. La zona de Reserva y Refugio de Vida Silvestre está contenida entre la cota de 20m y el nivel del mar. En la Reserva de Biosfera propiamente dicha, el cordón medanoso llega hasta 30 msnm, y en la fase estuarial la altitud desciende aproximadamente hasta 1,50m bajo el nivel del mar. En el sector de costas se presenta una pendiente de 10° en la berma de desgaste.

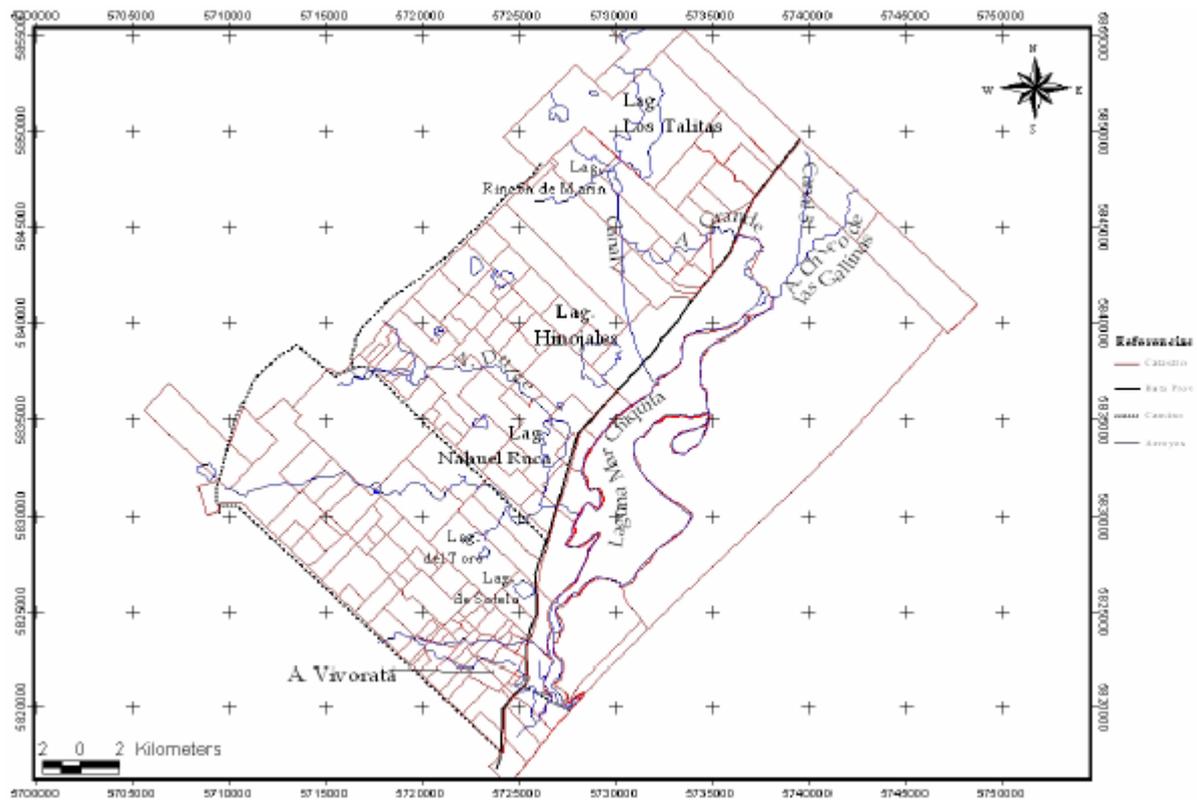


Figura III.2: UBICACIÓN DE LOS PRINCIPALES TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA (en Maceira N. O. et al., 2005)

Debido a la importancia del aporte de los tributarios hacia la laguna costera Mar Chiquita, el objetivo de este trabajo fue:

- Estudiar el aporte de nutrientes y metales pesados por los tributarios de la laguna costera Mar Chiquita.

Los objetivos específicos de este capítulo fueron:

- Determinar la concentración de nutrientes (compuestos inorgánicos de N (NO_2 , NO_3 , NH_4), P (PO_4) y Si (SiO_2)) en los principales tributarios de la laguna Mar Chiquita.
- Determinar la concentración de metales pesados (Cd, Cu, Cr, Pb, Zn, Fe, Ni, Mn) en los principales tributarios de la laguna Mar Chiquita.
- Estudiar los parámetros hidrológicos (temperatura, salinidad, turbidez, pH, oxígeno disuelto) y meteorológicos (precipitaciones) que pueden condicionar la distribución de nutrientes y metales pesados en el sistema.

III.2- MATERIALES Y METODOS

Se realizaron un total de 6 campañas de muestreo bimestrales desde el mes de marzo de 2006 hasta el mes de enero de 2007 (*Tabla III.1*).

TABLA III.1. FECHAS DE LAS CAMPAÑAS DE MUESTREO REALIZADAS EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

Nº campaña	2006	2007
1	28 de marzo	
2	23 de mayo	
3	17 de julio	
4	19 de septiembre	
5	21 de noviembre	
6		17 de enero

Los principales tributarios seleccionados para la toma de las muestras fueron: Arroyo de las Gallinas (o Arroyo Chico), Canal 7, Arroyo Sotelo, Canal 5, Arroyo Grande y Arroyo Vivoratá. En cada caso las muestras se recolectaron en los puentes próximos a la Ruta Provincial Nº 11 (*Figura III.3*).

En cada una de las campañas se tomaron muestras de agua de columna para la determinación de parámetros hidrográficos, nutrientes, pigmentos, materia orgánica, material particulado en suspensión, metales disueltos y metales particulados (*Tabla I.2*). El procedimiento seguido fue el mismo que el descrito en los Capítulos I y II.



Figura III.3. SITIOS DE MUESTREO DE LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3- RESULTADOS

III.3.1- Parámetros meteorológicos e hidrográficos

III.3.1.1- Precipitaciones

Las precipitaciones totales registradas para este año de muestreo en la Estación Meteorológica de Mar del Plata fueron de 807,20mm. Coincidentemente, los meses en los que se realizaron las campañas fueron los meses en los que se registraron las menores precipitaciones (*Figura III.2*).

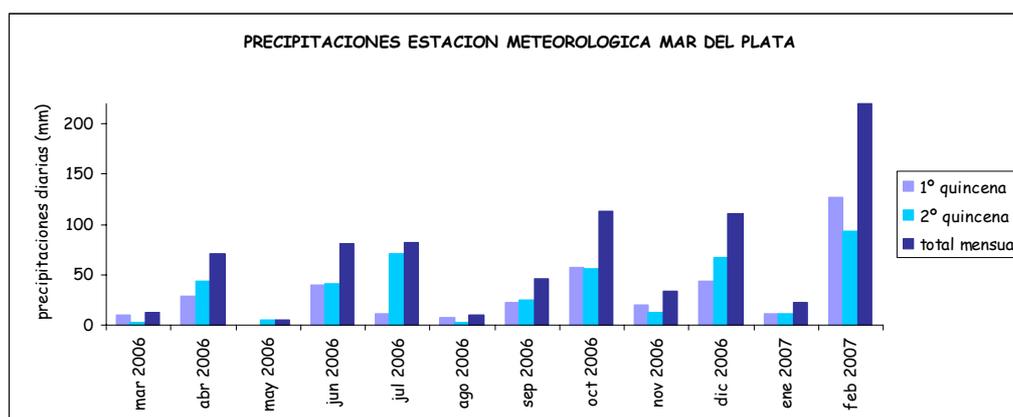


FIGURA III.2. DISTRIBUCIÓN DE LAS PRECIPITACIONES MEDIAS QUINCENALES Y MENSUALES DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007), REGISTRADAS EN LA ESTACIÓN METEOROLÓGICA DE MAR DEL PLATA.

III.3.1.2- Temperatura

Las temperaturas registradas en todos los tributarios presentaron un comportamiento similar (*Figura III.3*). A lo largo del año variaron entre los 6 y 23° C aproximadamente. Las mayores temperaturas se presentaron hacia fines de la primavera y verano y las menores hacia fines del otoño e invierno.

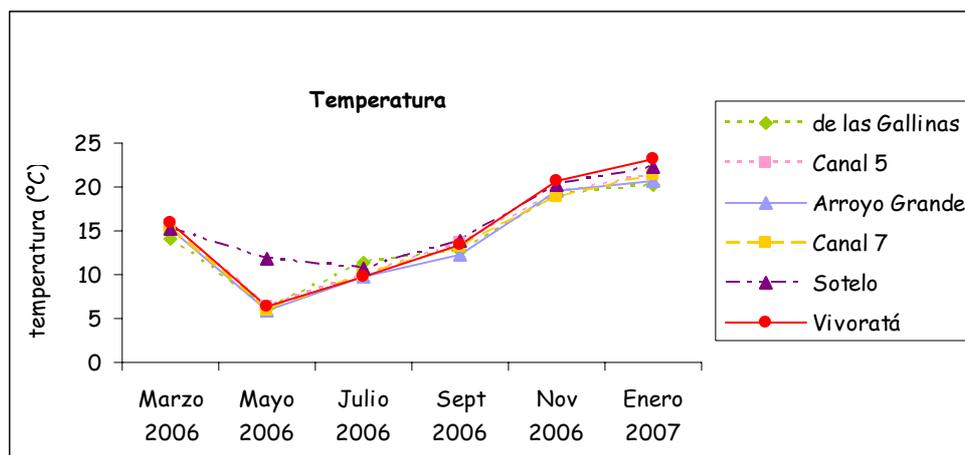


FIGURA III.3. DISTRIBUCIÓN DE LAS TEMPERATURAS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.1.3- Salinidad

La salinidad no presentó un comportamiento similar en todos los tributarios (*Figura III.4*). Las mayores salinidades se presentaron en el Arroyo Sotelo, con valores máximos de 20,4 y 21,8 ups en los muestreos de los meses de mayo de 2006 y enero de 2007. En el Arroyo de las Gallinas las salinidades registradas también fueron altas, y en este caso fueron similares a lo largo del año. Los restantes tributarios presentaron bajas salinidades. En el Canal 5 las salinidades oscilaron entre 1,54 - 4,23 ups, el Arroyo Grande presentó salinidades de 0,93 - 2,13 ups, en el Canal 7 oscilaron entre 0,92 - 1,93 ups mientras que en el Arroyo Vivoratá fueron de 0,73 - 0,89 ups.

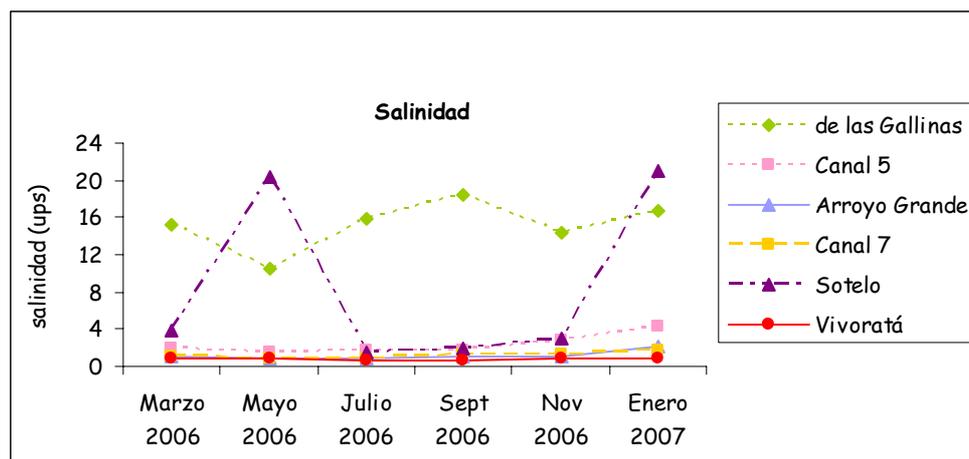


FIGURA III.4. DISTRIBUCIÓN DE LAS SALINIDADES DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.1.4- pH

En la *Figura III.5* se presentan los valores de pH de los tributarios de la laguna Mar Chiquita. Los valores presentaron diferencias entre cada tributario, aunque éstas no fueron demasiado grandes, y los mismos fueron casi constantes a lo largo del año. Los valores oscilaron entre 8 - 10 upH.

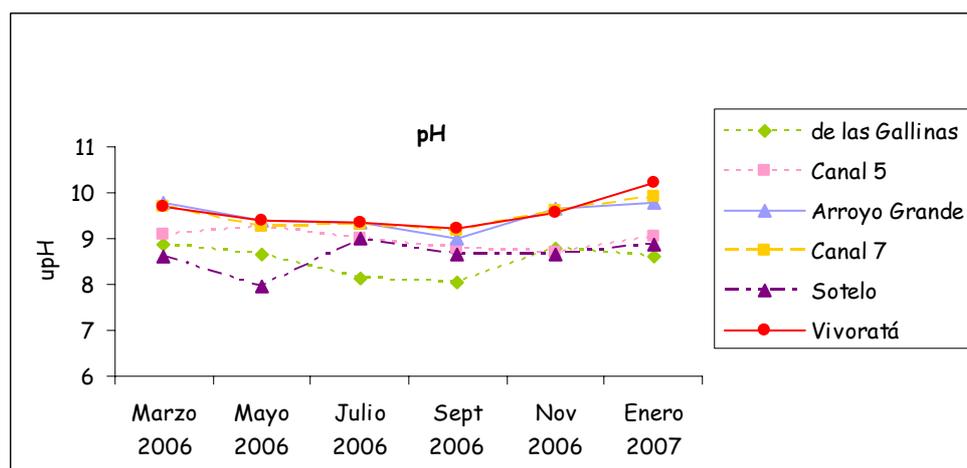


FIGURA III.5. DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES DE pH DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.1.5- Oxígeno disuelto y % de saturación de oxígeno

Las concentraciones de oxígeno presentes fueron muy variadas entre cada uno de los tributarios (*Figura III.6*). El Arroyo de las Gallinas presentó los menores valores de oxígeno disuelto entre 3,97 - 7 mg.L⁻¹. La mayor concentración la presentó el Arroyo Vivoratá en el mes de julio de 2006 y fue de 13,87 mg.L⁻¹. En general, el patrón observado es el de una mayor concentración de oxígeno disuelto en los meses más fríos.

Los porcentajes de saturación de oxígeno variaron entre 41% en el Arroyo de las Gallinas y 142% en el Canal 7.

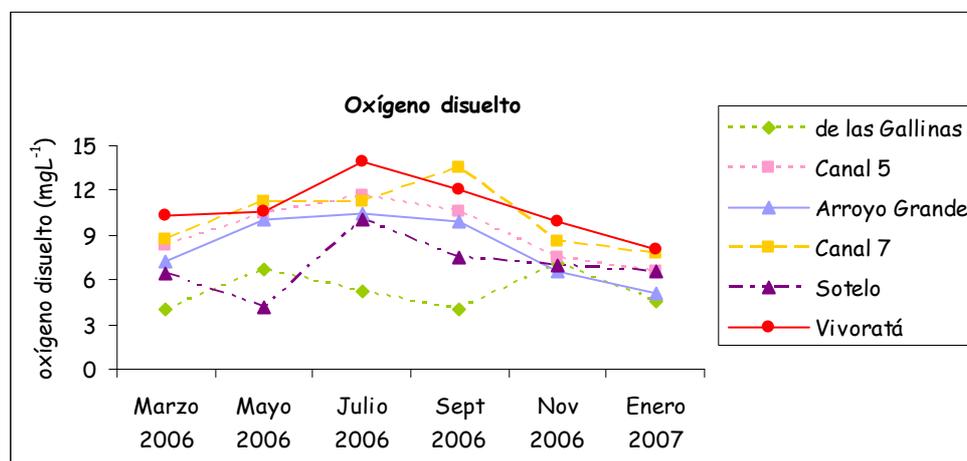


FIGURA III.6. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE OXÍGENO DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

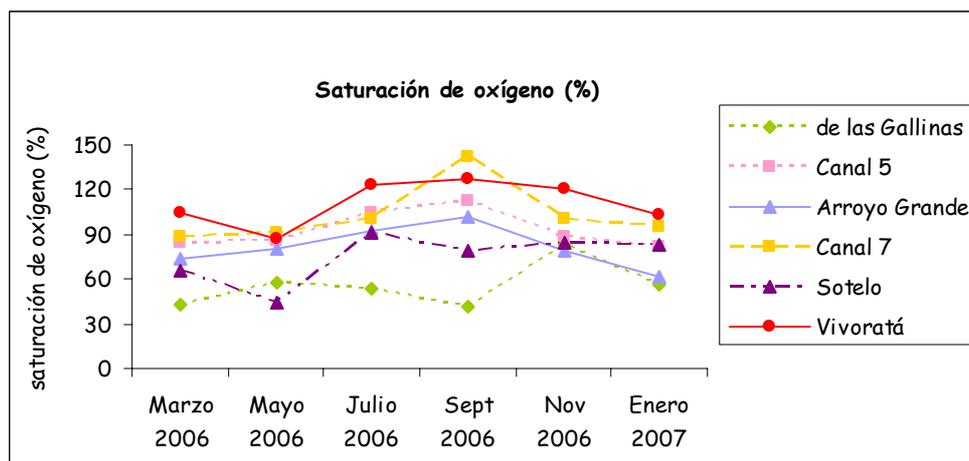


FIGURA III.7. DISTRIBUCIÓN DE LOS PORCENTAJES DE SATURACIÓN DE OXÍGENO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.1.6- Turbidez

Los valores de turbidez fueron muy oscilantes a lo largo del año y diferentes para cada uno de los tributarios (Figura III.8). En todos los casos, el mayor valor se registró en el mes de noviembre de 2006. El valor más elevado lo presentó el Arroyo Grande y fue de 145 UNT, mientras que el menor fue de 10,5 UNT en el Arroyo de las Gallinas.

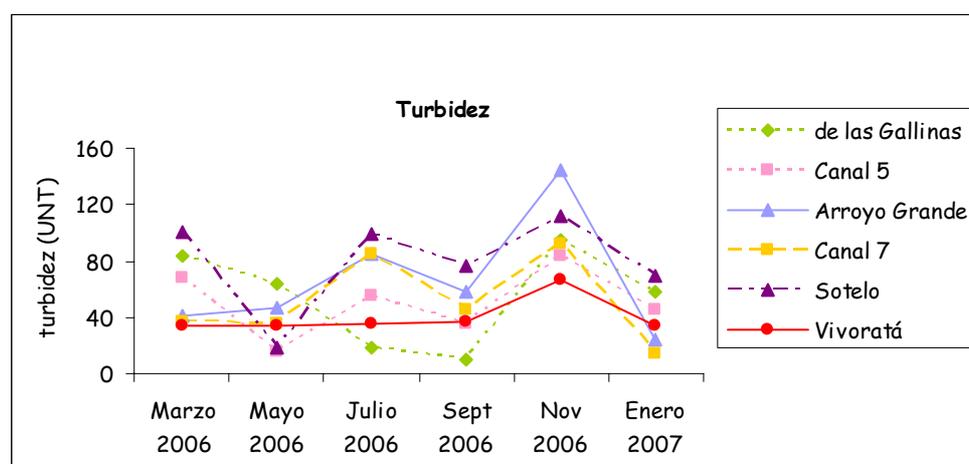


FIGURA III.8. DISTRIBUCIÓN DE LOS PORCENTAJES DE SATURACIÓN DE OXÍGENO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.1.7- Valores medios anuales de los parámetros hidrográficos

La *tabla III.2* resume los datos promedio de todos los parámetros en los tributarios de la laguna costera Mar Chiquita durante las 6 campañas realizadas. Se incluye el número de datos y la desviación estándar.

TABLA III.2. VALORES MEDIOS TOTALES, DESVIACIÓN ESTÁNDAR (D.S.) Y NÚMERO DE DATOS (N) DE LA TEMPERATURA, SALINIDAD, pH, OXÍGENO DISUELTO, % SATURACIÓN DE OXÍGENO Y TURBIDEZ DEL AGUA DE COLUMNA SUBSUPERFICIAL DE LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA PARA EL PERÍODO DE ESTUDIO.

		Las Gallinas	Canal 7	Sotelo	Canal 5	Arroyo Grande	Vivoratá
Temperatura (°C)	Media	13,88	14,11	15,63	14,44	13,9	14,93
	D.S.	5,19	5,68	4,65	5,59	5,69	6,38
	<i>n</i>	6	6	6	6	6	6
Salinidad (u.p.s.)	Media	15,16	1,19	8,62	2,32	1,24	0,79
	D.S.	2,73	0,30	9,44	1,02	0,45	0,06
	<i>n</i>	6	6	6	6	6	6
pH (unidades pH)	Media	8,52	9,49	8,62	8,98	9,49	9,57
	D.S.	0,35	0,30	0,36	0,21	0,31	0,37
	<i>n</i>	6	6	6	6	6	6
Oxígeno disuelto (mg.L ⁻¹)	Media	5,27	10,17	6,95	9,19	8,23	10,78
	D.S.	1,33	2,19	1,89	2,01	2,2	1,99
	<i>n</i>	6	6	6	6	6	6
% saturación de oxígeno	Media	56,67	102,83	74,5	93,17	81,5	111
	D.S.	15,07	19,83	17,05	12,29	14,07	15,34
	<i>n</i>	6	6	6	6	6	6
Turbidez (u.n.t.)	Media	54,92	51,42	79,33	50,58	66,58	39,92
	D.S.	34,05	30,75	33,99	23,74	43,41	12,83
	<i>n</i>	6	6	6	6	6	6

III.3.2- Nutrientes

III.3.2.1- Amonio

Las concentraciones de amonio no presentaron un patrón similar de distribución a lo largo del año para todos los tributarios (*Figura III.9*). Sin embargo, en el mes de enero de 2007 se observó un aumento de las concentraciones en todos

los casos. También se observó un pico de concentraciones en el mes de septiembre de 2006 en los Arroyos Grande y de las Gallinas, con concentraciones de 153,10 y 142,48 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ respectivamente. En general, en el mes de noviembre de 2006 se observó una disminución abrupta de las concentraciones en la mayoría de los tributarios.

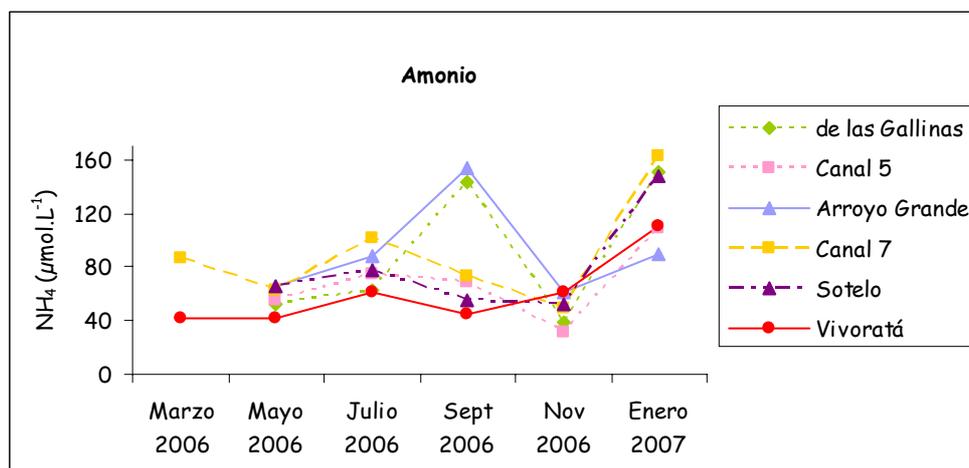


FIGURA III.9. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE AMONIO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.2.2- Nitritos

En general, las concentraciones de nitritos fueron bajas (**Figura III.10**). El Arroyo Grande y el Canal 7, fueron los tributarios que presentaron valores más altos (4,26 y 4,43 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ respectivamente). En los otros tributarios, las concentraciones a lo largo del año fueron menores a 1 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

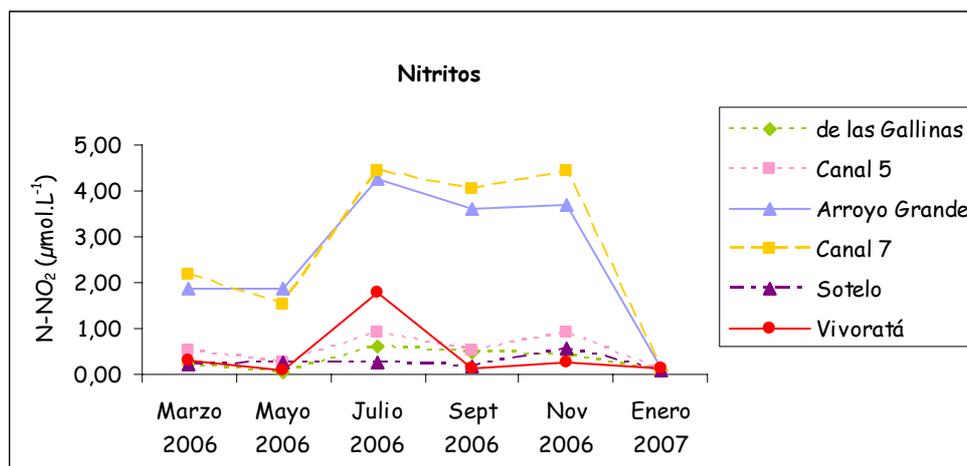


FIGURA III.10. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NITRITOS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.2.3- Nitratos

Las concentraciones de nitratos presentes en cada uno de los tributarios variaron marcadamente a lo largo del año y entre cada uno de los afluentes (*Figura III.11*). Los tributarios que presentaron máximas concentraciones -hasta cinco veces mayores que en el resto de los afluentes- fueron el Arroyo Grande y el Canal 7, con concentraciones máximas de 381,60 y 481,39 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, respectivamente. Se observó un patrón general en el comportamiento de los nitratos, los cuales se presentaron en mayores concentraciones durante los meses de fines de otoño e invierno.

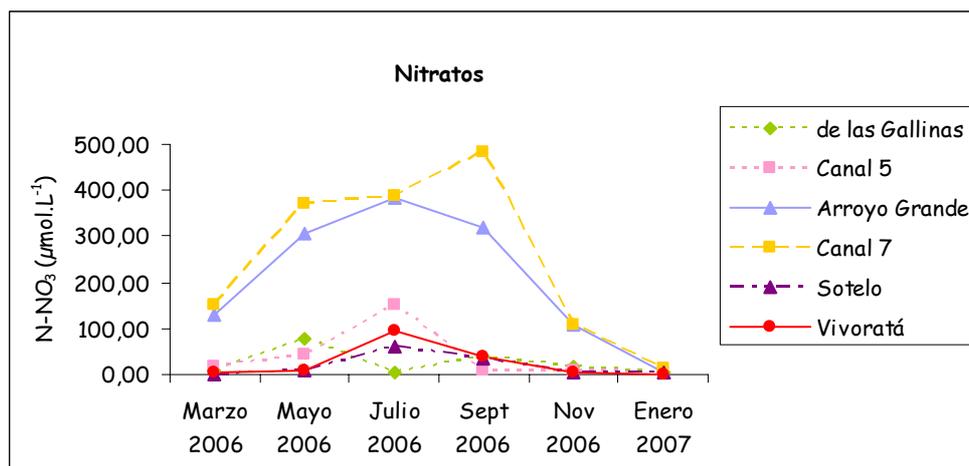


FIGURA III.11. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NITRATOS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.2.4-Nitrógeno inorgánico disuelto (DIN)

Como se observa en la *Figura III.12*, las concentraciones de DIN presentaron un comportamiento similar a lo largo del año en todos los tributarios, aunque las concentraciones entre ellos fueron muy diferentes. El Canal 7 y el Arroyo Grande fueron los tributarios que presentaron concentraciones mucho mayores que el resto. Este último presentó valores entre 92,07 y 474,40 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, mientras que los del Canal 7 variaron entre 160,91 y 558,44 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. El resto de los tributarios presentaron concentraciones menores a los 200 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Las mayores concentraciones se observaron hacia fines del otoño e invierno.

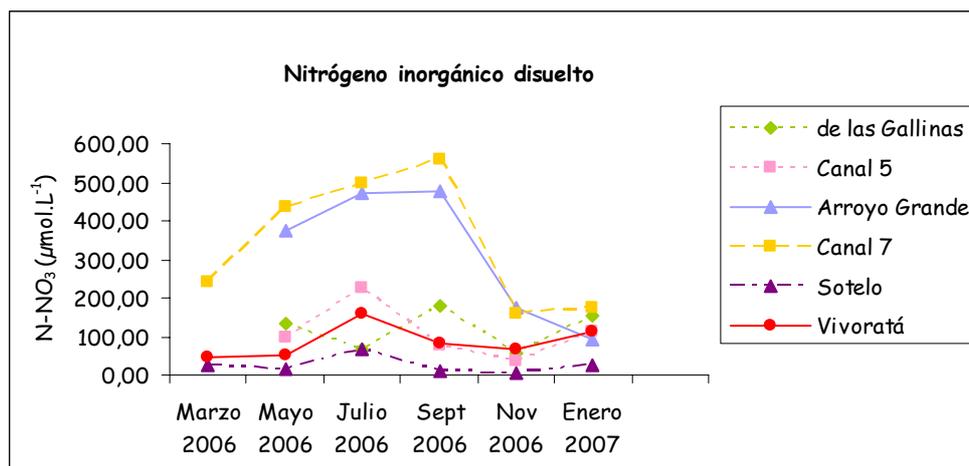


FIGURA III.12. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO INORGÁNICO DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.2.5- Fósforo inorgánico disuelto (DIP)

Las concentraciones de DIP presentaron grandes variaciones entre los tributarios (Figura III.13). EL Canal 7 y el Arroyo Grande presentaron concentraciones muy altas, con valores máximos de 88,28 y 40,85 µmol.L⁻¹ respectivamente. En el resto de los tributarios las concentraciones de DIP fueron bajas, con valores que no superaron los 6 µmol.L⁻¹.

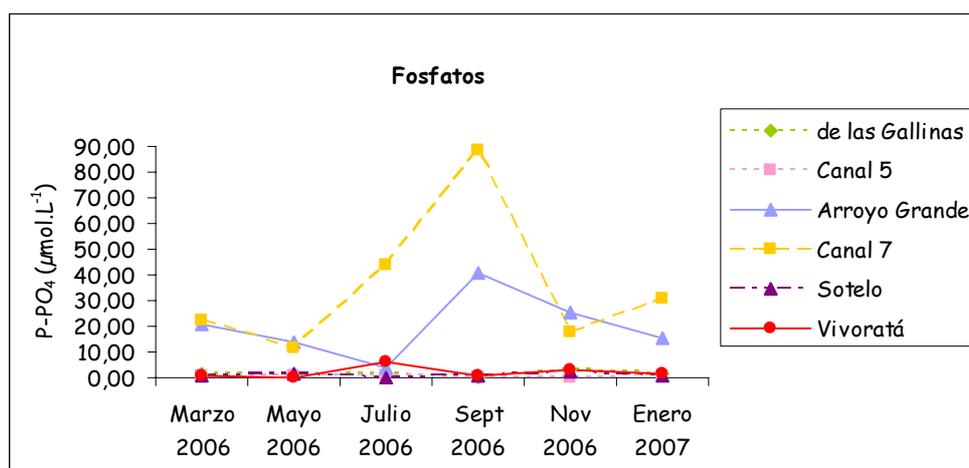


FIGURA III.13. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE FOSFATO INORGÁNICO DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.2.6- Silicatos

Las concentraciones de silicatos fueron similares en todos los tributarios (*Figura III.14*), a excepción del mes de julio de 2006 cuando se observaron muy elevadas concentraciones en Arroyo Grande, Canal 7, Arroyo Vivoratá y Canal 5, con valores cercanos a los 700 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. El resto de los meses las concentraciones fueron menores a los 300 $\mu\text{mol.L}^{-1}$, con los valores mínimos en verano.

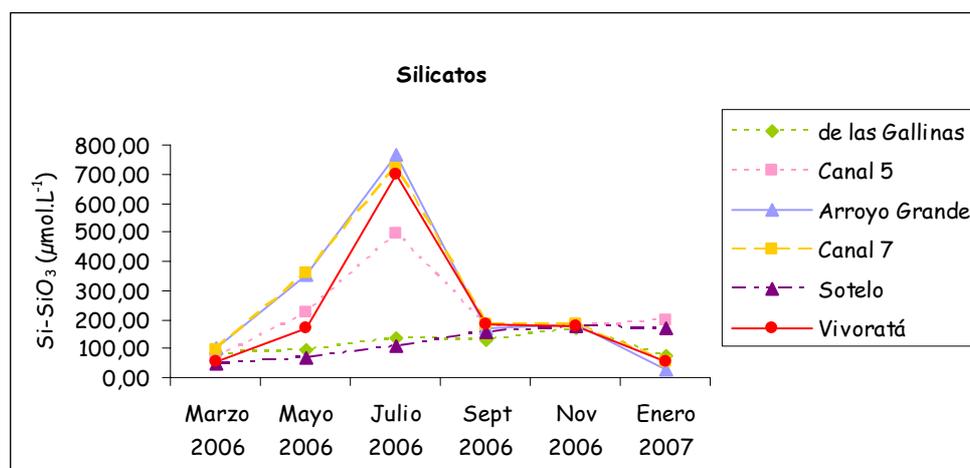


FIGURA III.14. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE SILICATOS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.3- Materia orgánica particulada (M.O.P.)

Las concentraciones de MOP en Canal 5, Arroyo Grande, Canal 7 y Arroyo Vivoratá fueron similares, relativamente constantes a lo largo del año y menores a los 2000 mgC.m^{-3} . En los Arroyos de las Gallinas y Sotelo, los valores de MOP presentes fueron mayores y con variaciones a lo largo del año. En el Arroyo Sotelo las concentraciones variaron entre 2426 y 5491 mgC.m^{-3} , mientras que en el Arroyo de las Gallinas las concentraciones fueron de 1322 a 4962 mgC.m^{-3} . En ningún caso se observó un comportamiento definido a lo largo del año. La MOP nunca llegó a

depleción completa a lo largo del período estudiado, y sus valores mínimos fueron del orden de 28 mgC.m^{-3} .

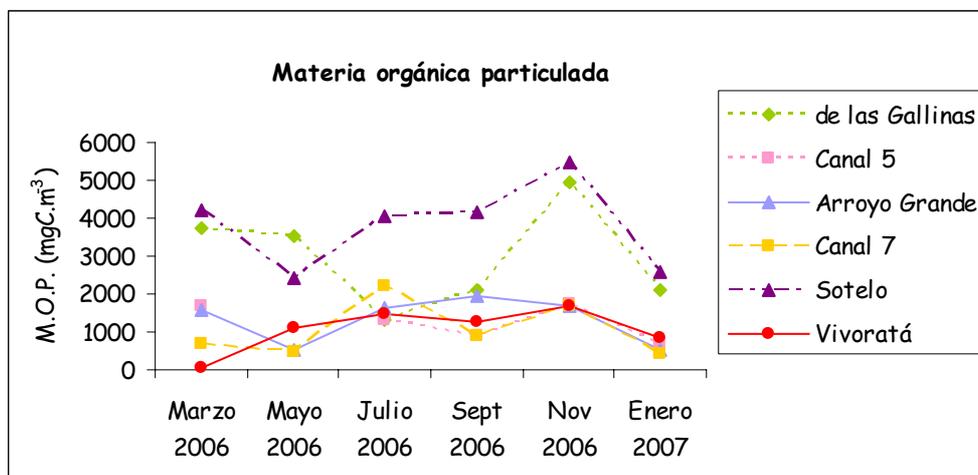


FIGURA III.15. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE MATERIA ORGÁNICA PARTICULADA DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.4- Pigmentos

III.3.4.1- Clorofila *a*

Las concentraciones de pigmentos fueron en general altas, y los tributarios presentaron un comportamiento similar, aunque las concentraciones presentes variaron mucho entre ellos (*Figura III.16*). En todos los tributarios se observaron tres picos de concentraciones máximas. El pico máximo se presentó en el mes de noviembre, y los otros dos se presentaron en los meses de marzo y julio. Los mayores valores de clorofila *a* se observaron en el Arroyo Sotelo, con concentraciones que fueron desde los 16,76 (mayo de 2006) hacia los $112,90 \mu\text{g.L}^{-1}$ (noviembre de 2006).

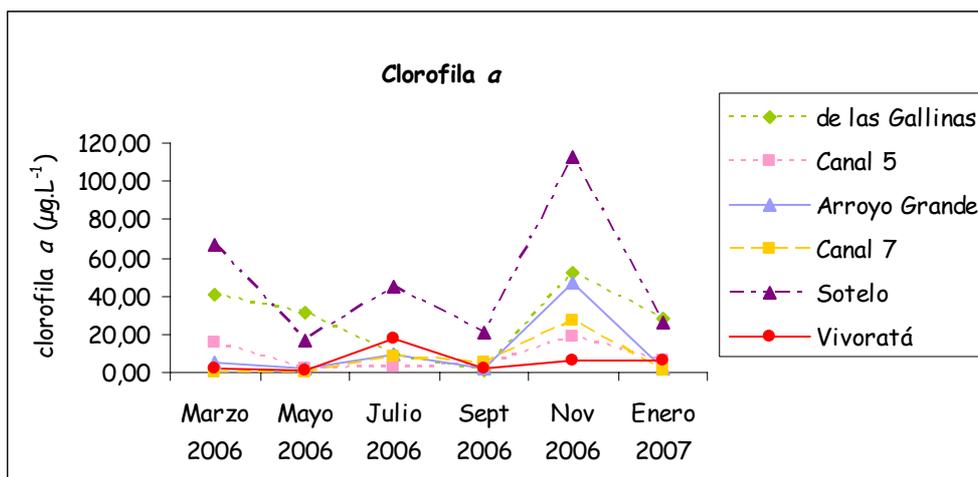


FIGURA III.16. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE CLOROFILA *a* DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.4.2- Feopigmentos

En la *Figura III.17* se observa la distribución de feopigmentos durante el año de estudio. El comportamiento de estos pigmentos fue diferente en todos los tributarios, con variaciones a lo largo del año. Las mayores concentraciones se observaron en el Arroyo Sotelo, con pico máximo 65,34 µg.L⁻¹ en el mes de julio de 2006.

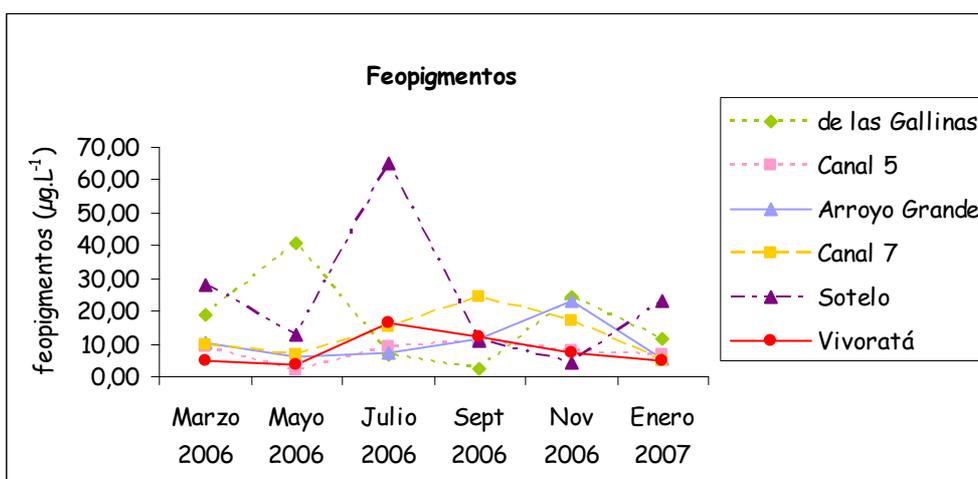


FIGURA III.17. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE FEOPIGMENTOS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.5- MPS

El comportamiento del MPS fue similar en todos los tributarios. Las máximas concentraciones en todos los casos se observaron en el mes de noviembre de 2006. Las concentraciones oscilaron entre 18,88 - 67,48 mg.L⁻¹ en el Arroyo de las Gallinas, 10,5 - 47,44 mg.L⁻¹ en el Canal 5, 27,92 - 87,93 mg.L⁻¹ en el Arroyo Grande, 13,38 - 31,6 mg.L⁻¹ en el Canal 7, 27,3 - 49,2 mg.L⁻¹ en el Arroyo Sotelo y entre 9,12 - 40,7 mg.L⁻¹ en el Arroyo Vivoratá.

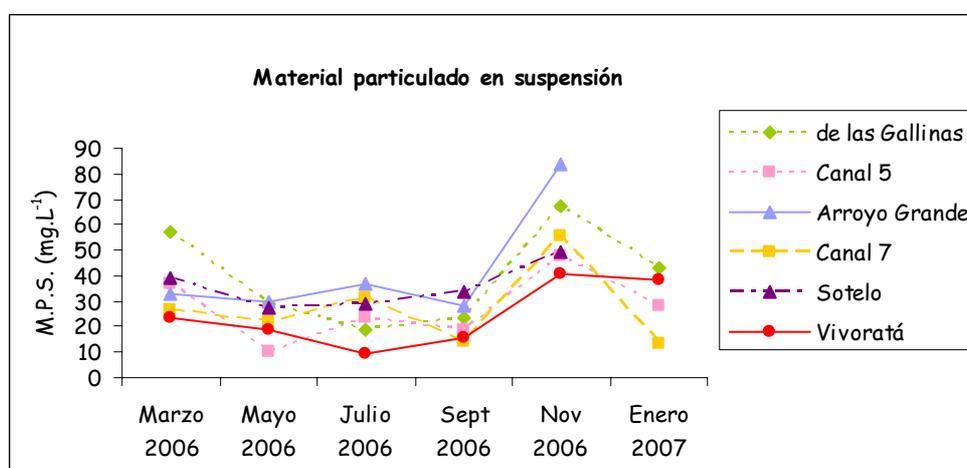


FIGURA III.18. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6- Metales disueltos

III.3.6.1- Cd

Las concentraciones de Cd disuelto variaron a lo largo del año y entre cada tributario (Figura III.19). En muchas ocasiones las concentraciones presentes fueron menores al límite de detección del método (LDM) mientras que en otras ocasiones fueron mayores. Las concentraciones en el Arroyo Sotelo fueron en todos los casos menores al LDM a excepción del mes de septiembre de 2006 con una concentración máxima de 1,54 $\mu\text{g.L}^{-1}$. En el Arroyo Vivoratá en general no se detectó este metal, a

excepción de un pico de $1,58 \mu\text{g.L}^{-1}$ en enero de 2007. En el resto de los tributarios, las máximas concentraciones detectadas fueron menores a $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, y en otras ocasiones estuvieron por debajo del LDM.

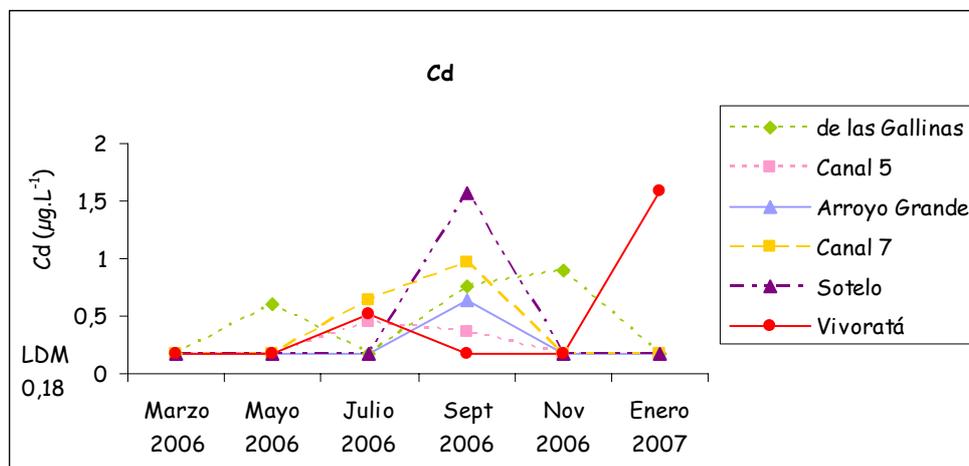


FIGURA III.19. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6.2- Pb

En general, las concentraciones de Pb disuelto presentes fueron menores a $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ o por estuvieron por debajo del LDM (*Figura III. 20*). En todos los casos se observó un leve aumento de las concentraciones en el mes de enero de 2007. En el Arroyo de las Gallinas, se observó la mayor concentración de plomo de $17,26 \mu\text{mol.L}^{-1}$, en el mes de septiembre de 2006.

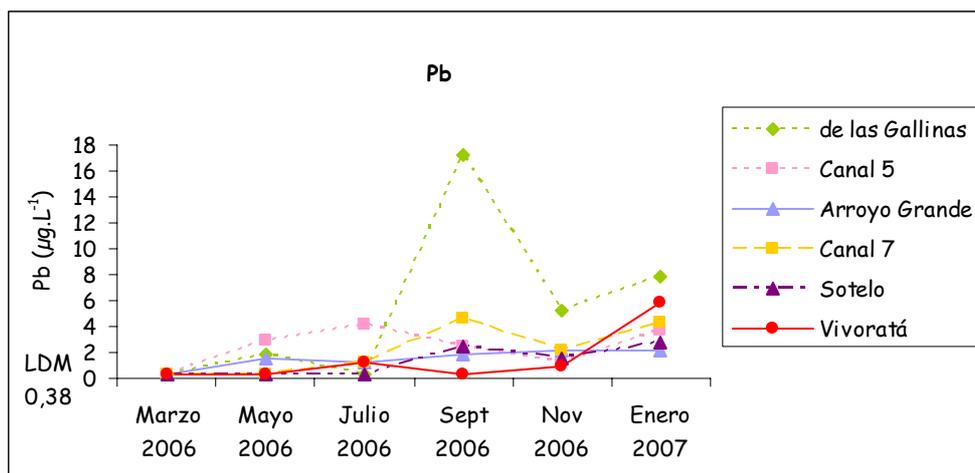


FIGURA III.20. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Pb DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6.3- Cu

En general, las concentraciones de Cu presentes en los tributarios fueron no detectables (*Figura III.21*). Sin embargo, en algunas ocasiones se presentaron concentraciones mayores entre 20 - 80 $\mu\text{g.L}^{-1}$. En el Arroyo de las Gallinas, se observó un valor mucho mayor, con una concentración de cobre disuelto presente en el mes de septiembre de 2006 de 448,87 $\mu\text{g.L}^{-1}$. No se observó un comportamiento similar en los restantes tributarios.

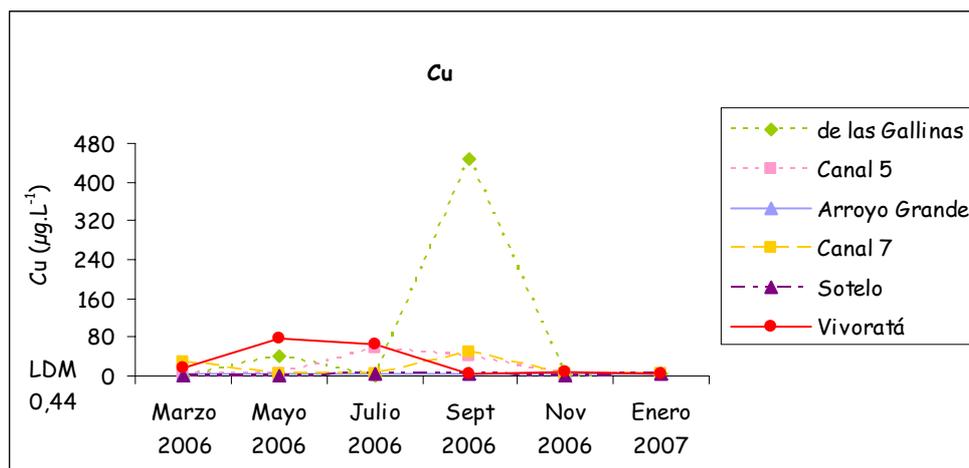


FIGURA III.21. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cu DISUELTAS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6.4- Cr

En general, las concentraciones de Cr presentes estuvieron por encima del LDM (Figura III.22). El comportamiento de los tributarios fue similar, al igual que las concentraciones presentes en cada uno. Se observaron dos picos de concentraciones máximas durante los meses de julio y noviembre de 2006. La máxima concentración observada fue de 35,92 µg.L⁻¹ en el Canal 7. Las menores concentraciones en todos los casos se presentaron en marzo de 2006 y enero de 2007.

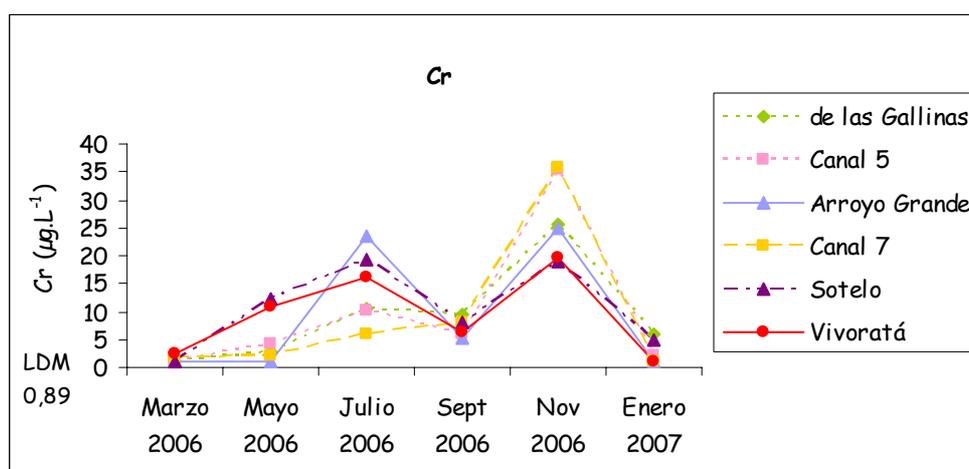


FIGURA III.22. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cr DISUELTAS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6.5- Ni

Las concentraciones de Ni presentes fueron muy variables a lo largo del año (*Figura III.23*). No se observó ningún patrón de comportamiento similar entre los tributarios. En todos los casos, las concentraciones variaron desde niveles no detectables hasta concentraciones de 20 - 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$; mientras que en el Arroyo Vivoratá se observó un máximo de concentración de 41,85 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

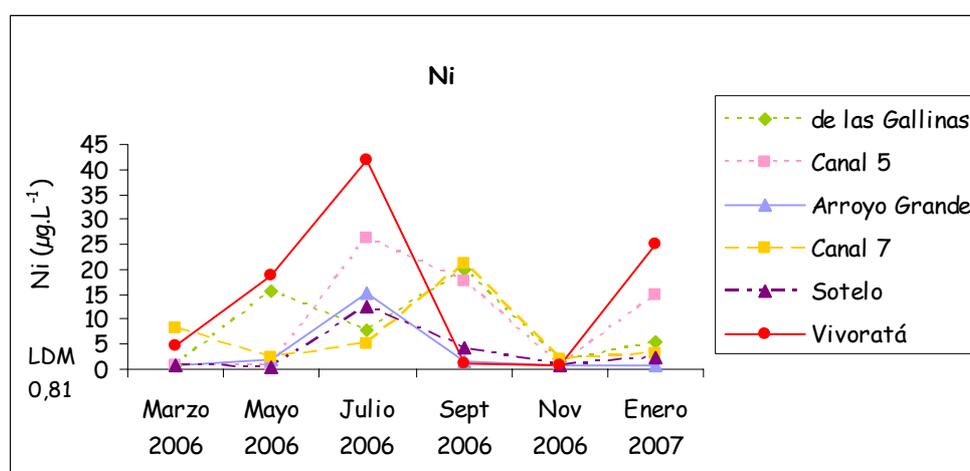


FIGURA III.23. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Ni DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6.6-Fe

En general, las concentraciones de Fe presentes fueron bajas (*Figura III.24*). Sin embargo, se registraron en algunas ocasiones valores altos. El máximo valor registrado fue de 969,14 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en septiembre de 2006 en el Arroyo de las Gallinas.

Otros picos de concentración se registraron en enero de 2007 con valores de 620,86 y 543,34 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en el Arroyo Vivoratá y en el Canal 5, respectivamente.

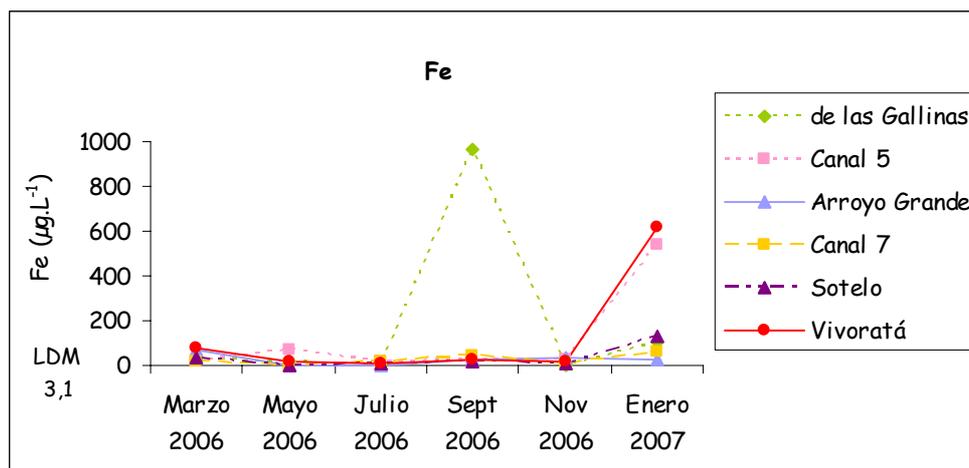


FIGURA III.24. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Fe DISUELTO DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.6.7- Zn

Las concentraciones de Zn observadas fueron muy fluctuantes a lo largo del año (*Figura III.25*). Además, los valores detectados en cada tributario presentaron grandes variaciones entre ellos. Las concentraciones halladas en los Arroyos de las Gallinas, Grande y Sotelo fueron muy bajas o no detectables. En tanto, las concentraciones registradas en los Canales 5 y 7 y en el Arroyo Vivoratá en algunas ocasiones fueron elevadas. Estos valores fueron de aproximadamente 250 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

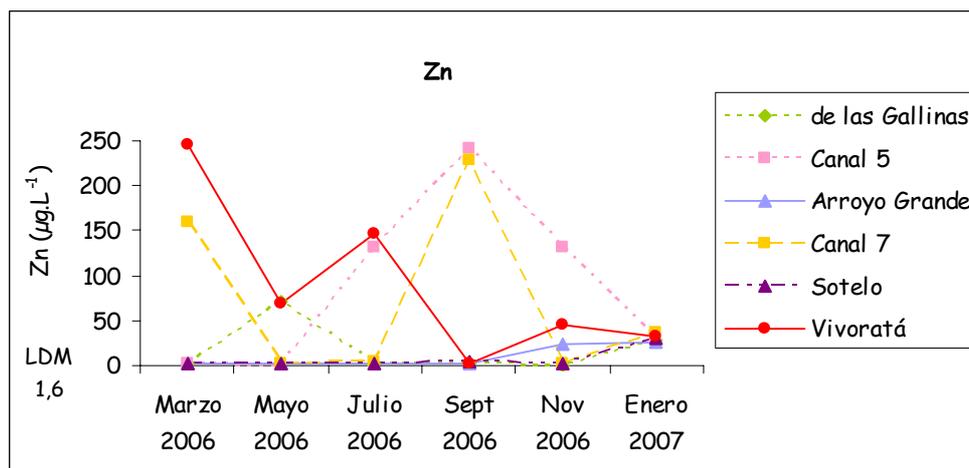


FIGURA III.25. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Zn DISUELTAS DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7- Metales en material particulado

III.3.7.1- Cd

En general, los valores de Cd particulado fueron bajos o no detectados (Figura III.26). Sin embargo, en el mes de septiembre de 2006 se registraron picos de concentraciones en el Canal 7, y los Arroyos Sotelo y Grande, con valores de 62,59; 49,89 y 20,4 µg.g⁻¹, respectivamente.

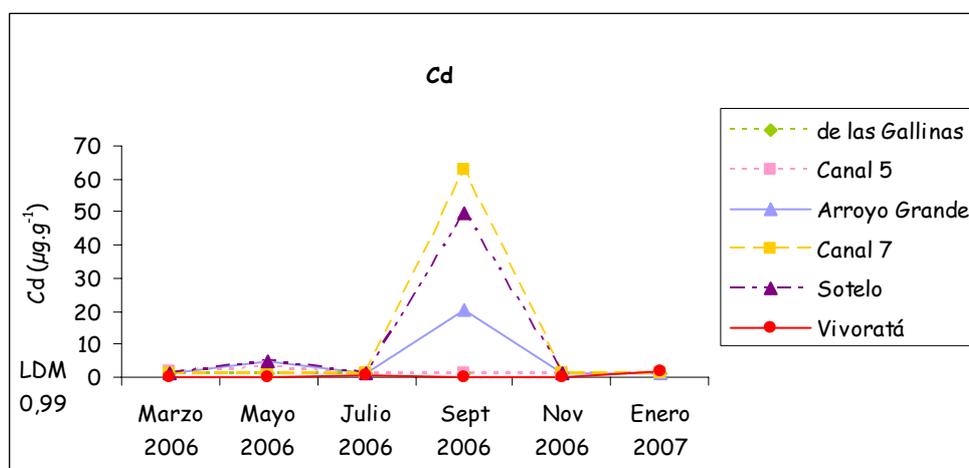


FIGURA III.26. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cd EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.2- Pb

Como muestra la *Figura III.27*, las concentraciones de Pb particulado en Canal 5, Arroyo Grande, Arroyo Vivorotá y Arroyo de las Gallinas fueron muy bajas o no detectables. Sin embargo, en el Arroyo Sotelo y en el Canal 7 se registraron elevadas concentraciones, con valores máximos de 217,6 y 182,34 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente. Estas concentraciones mayores se registraron en los meses correspondientes a invierno y primavera.

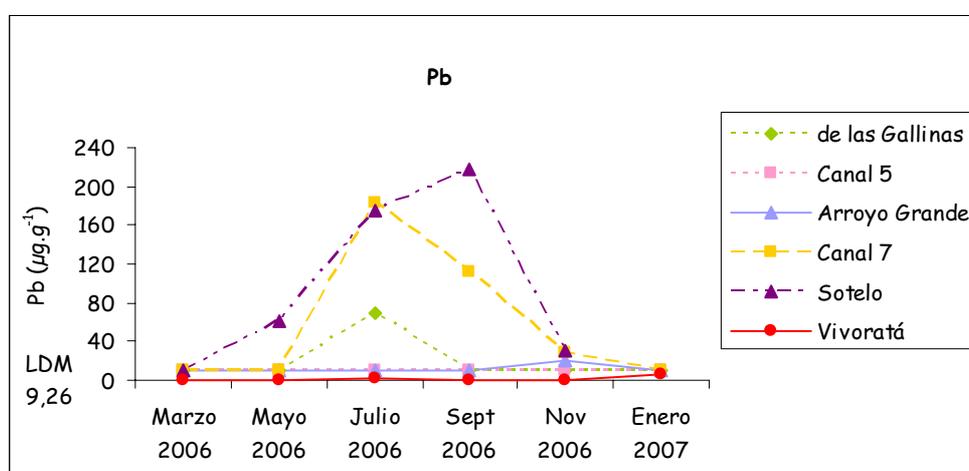


FIGURA III.27. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Pb EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.3- Cu

Las concentraciones registradas de Cu en MPS (*Figura III.28*) en todos los casos fueron muy bajas o no detectables; a excepción de un pico de concentración durante el mes de septiembre de 2006 en Canal 5, Arroyo de las Gallinas y Canal 7, donde se registraron altas concentraciones, con valores de 754,55; 558,49 y 153,27 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

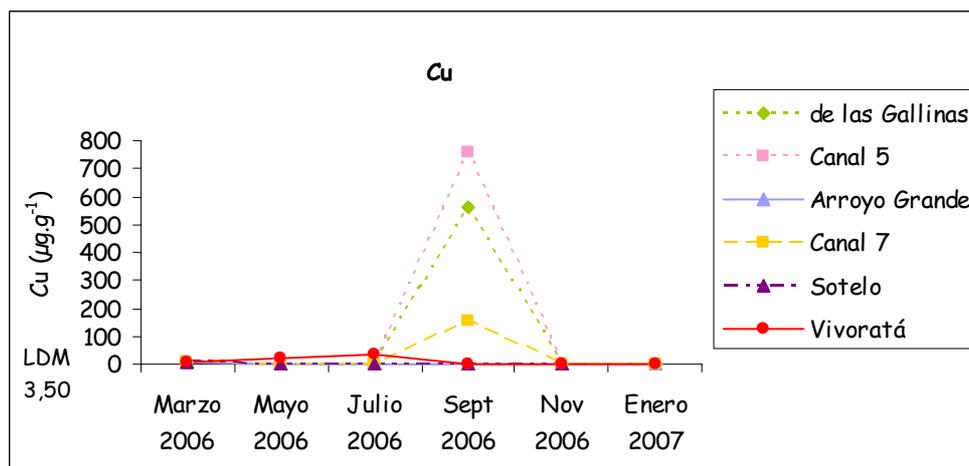


FIGURA III.28. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cu EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.4- Cr

Las concentraciones de Cr en MPS variaron a lo largo del año (Figura III.29). Sin embargo, en general estas concentraciones fueron bajas, con concentraciones máximas de 16,53 µg.g⁻¹; en muchas ocasiones las concentraciones fueron muy bajas o no detectables.

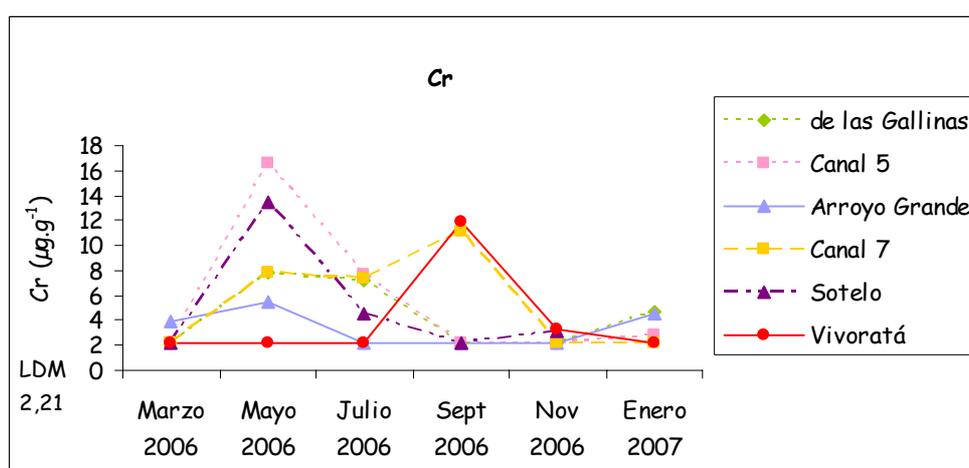


FIGURA III.29. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Cr EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.5- Ni

La *Figura III.30* muestra la distribución de las concentraciones de Ni en MPS durante el año de estudio. En muchas ocasiones, las concentraciones de todos los tributarios fueron no detectables. Sin embargo, en todos los tributarios en alguna de las campañas realizadas durante el año completo mostraron valores altos. Estas concentraciones más elevadas fueron de: 508,77 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el Arroyo de las Gallinas; 644,07 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el Canal 5; 315,46 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el Arroyo Grande; 101,67 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el Canal 7 y 212,39 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el Arroyo Vivoratá. Los menores valores los presentó el Arroyo Sotelo con una concentración máxima de 53,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

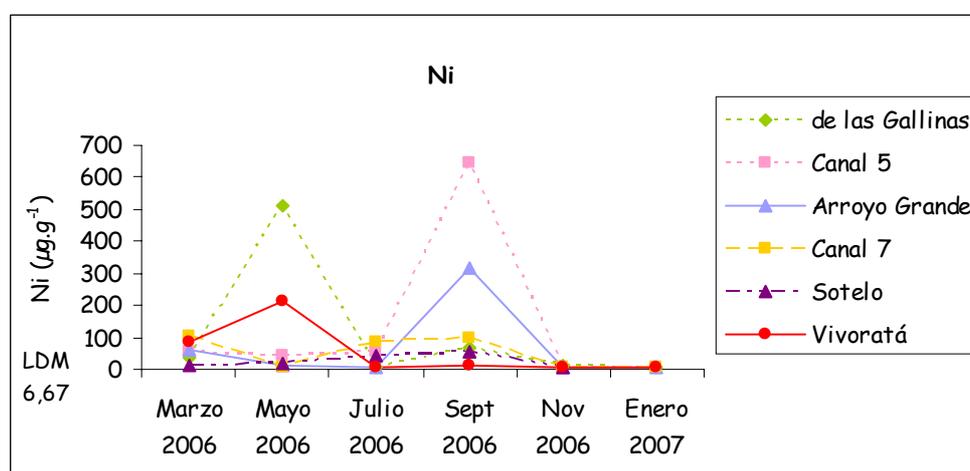


FIGURA III.30. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Ni EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.6- Mn

Las concentraciones de Mn en MPS fueron muy variadas tanto entre cada uno de los tributarios como a lo largo del año de estudio (*Figura III.31*). Las concentraciones presentes en todos los casos fueron altas. Los Arroyos Vivoratá y Grande presentaron los menores valores, y relativamente constantes a lo largo del año, con concentraciones cercanas a los 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. El Arroyo Sotelo y el Canal 7 presentaron valores muy similares, con concentraciones entre los 600 - 2400 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Las mayores concentraciones se observaron en el Canal 5 y en el Arroyo de las Gallinas; ambos presentaron un comportamiento similar en la distribución de las concentraciones y los valores variaron entre 1500 - 4500 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ aproximadamente.

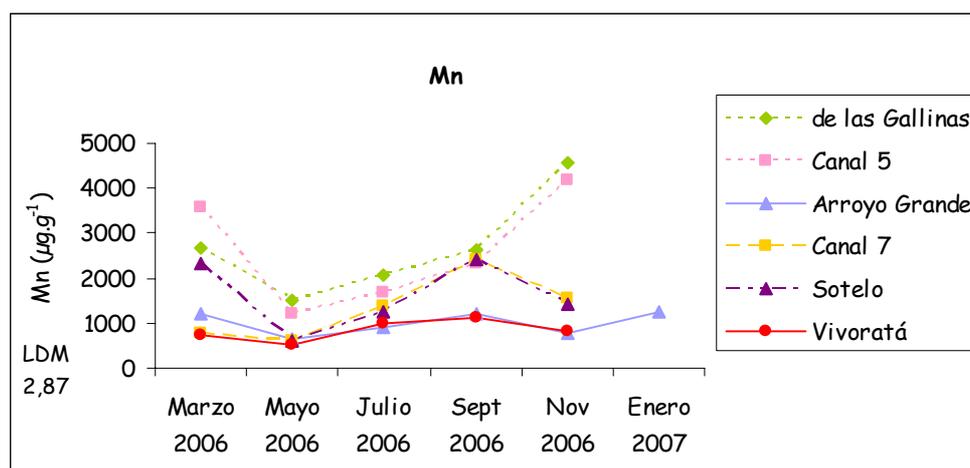


FIGURA III.31. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Mn EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.7- Zn

Las concentraciones de Zn presentes en el MPS fueron muy variables a lo largo del año y entre los tributarios (*Figura III.32*). La máxima concentración observada, con un valor muy elevado de 16637 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ se presentó en el Canal 5, en el mes de septiembre de 2006; además en este canal también se presentaron concentraciones de 881,09 y 450,73 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. También en septiembre de 2005 se observó un pico de concentración en el Arroyo de las Gallinas, de 2873,13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; además se presentó un pico de concentración en el Arroyo de las Gallinas, de 816,04 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en marzo de 2006 mientras que durante el resto del año las concentraciones en este arroyo fueron bajas. En el mes de mayo de 2006 se observó un pico de concentración en el Arroyo Vivoratá de 3133,37 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; en este arroyo además se presentaron concentraciones de 511,57 y 326,94 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. En el Arroyo Grande se observaron 2 picos de concentraciones cercanas a los 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, en los meses de marzo de 2006 y enero de 2007; y durante el resto del año los valores

fueron bajos. El Arroyo Sotelo presentó dos valores altos de 902 y 712 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en los meses de marzo y mayo de 2006; mientras que los valores restantes fueron bajos. Finalmente, el Canal 7 presentó los menores valores, con una concentración máxima de 633,46 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en el mes de septiembre de 2006.

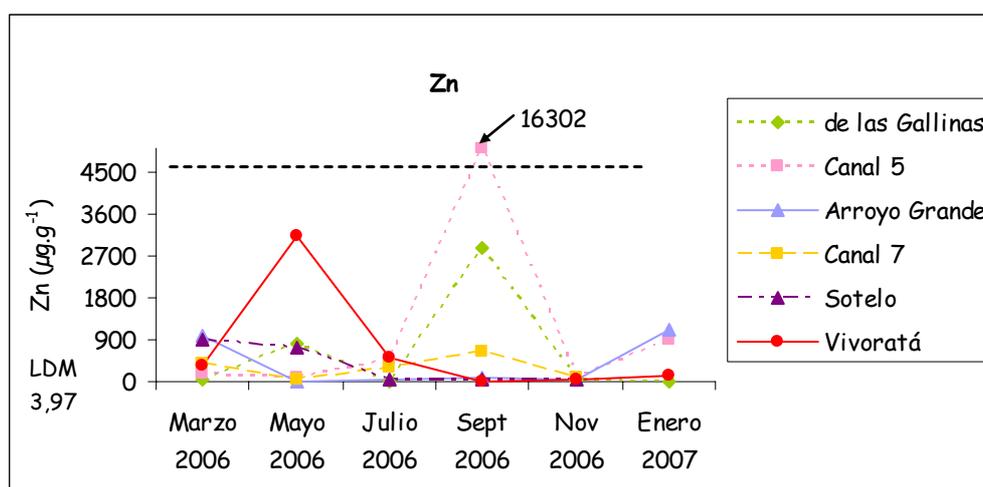


FIGURA III.32. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Zn EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.3.7.8-Fe

Las concentraciones de Fe presentes fueron elevadas y muy variadas entre cada tributario. Las menores concentraciones las presentó el Arroyo de las Gallinas, con concentraciones cercanas a los 5 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. El Arroyo Sotelo, con concentraciones máximas de 13,88 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, es el siguiente en presentar las menores concentraciones. Los restantes tributarios presentaron mayores concentraciones y un comportamiento similar, en el cual se observó un pico de concentración en el mes de julio de 2006 con concentraciones de aproximadamente 38 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ en los Arroyos Grande y Vivoratá y Canal 5; mientras que en el Canal 7 la concentración fue de 22,21 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$.

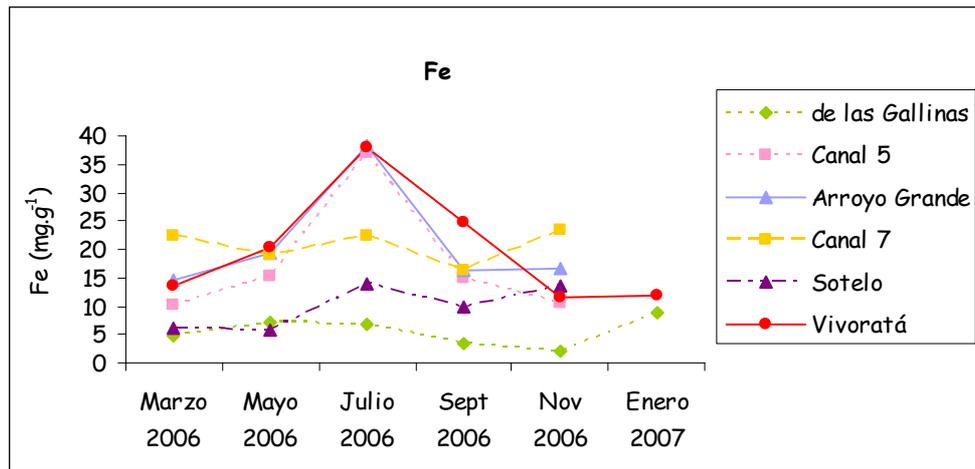


FIGURA III.33. DISTRIBUCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE Fe EN MATERIAL PARTICULADO EN SUSPENSIÓN DURANTE EL PERÍODO DE ESTUDIO (MARZO 2006-ENERO 2007) EN LOS TRIBUTARIOS DE LA LAGUNA MAR CHIQUITA

III.4- DISCUSIÓN

La cuenca de la laguna costera Mar Chiquita cubre alrededor de un millón de hectáreas, a la que aportan 21 arroyos y canales artificiales que nacen en el Sistema de Tandilla. En toda esta región se desarrolla una intensa actividad agrícola y ganadera. Las condiciones ambientales de la cuenca son de vital importancia para el ecosistema de la laguna costera Mar Chiquita. En este estudio se evaluaron sus principales afluentes: los Canales 5 y 7, y los Arroyos de las Gallinas, Grande, Sotelo y Vivoratá.

La **temperatura** de los arroyos y canales que desembocan en la laguna Mar Chiquita mostraron un comportamiento similar. Este comportamiento es característico de los ambientes templados, con las menores temperaturas presentes en los meses de otoño e invierno y un aumento de las mismas en primavera y verano. Las tendencias y valores similares en todos los tributarios estudiados se relaciona con el hecho que todos estos arroyos y canales presentan características similares en relación a su profundidad, ancho y condiciones de los bordes (ninguno presenta vegetación alta que pueda disminuir la exposición a la radiación), a excepción de la velocidad de corriente, que si bien no se realizaron mediciones precisas, el Arroyo de las Gallinas presentaría una menor velocidad en comparación al resto (obs. pers.).

La **salinidad** presenta un comportamiento diferente entre los tributarios de Mar Chiquita. Los Canales 5 y 7 y los Arroyos Grande y Vivoratá presentaron bajas salinidades. Esto indica que presentan un comportamiento típico de ambientes continentales. Por su parte, el Arroyo de las Gallinas y el Arroyo Sotelo presentaron salinidades altas. En el Arroyo de las Gallinas las salinidades fueron altas a lo largo del año, con un promedio de 15,16 ups. Esto sugiere que la salinidad en este arroyo puede estar influenciada por las mareas (aunque esta situación es muy poco probable ya que esta zona del cuerpo lagunar presenta características oligohalinas donde no se ha registrado el efecto de las mareas (Marcovecchio *et al.*, 2006) o por aportes terrestres de los campos y suelos aledaños que atraviesa hasta llegar a la laguna. También podría estar relacionado con el hecho de que este es un

paleoambiente marino, y esto podría estar relacionado con suelos salinos y, por lo tanto, un mayor aporte de sales. En el Arroyo Sotelo las salinidades variaron a lo largo del año. Las altas salinidades se presentaron en mayo y enero, estos valores altos podrían deberse a la influencia de las mareas, ya que estos dos muestreos coincidieron con la presencia de corrientes opuestas, es decir, desde la laguna hacia el interior (obs. personal). Si bien este arroyo desemboca en una zona de la laguna muy alejada de la boca y en donde la influencia de la marea es muy baja, esta laguna podría presentar una dinámica de sus corrientes particular que permita que con determinadas condiciones la influencia de la marea sea mayor, lo que puede ocasionar aumentos de salinidad. Altos valores de salinidad también fueron medidos por De Francesco e Isla (2001), quienes registraron salinidades de 23-38 ups en la desembocadura del Arroyo Sotelo.

Los valores de **pH** fueron casi constantes a lo largo del año en cada tributario. Las diferencias de valores entre ellos fueron de hasta 2 upH. Los valores presentes estuvieron dentro de un rango de valores de 8 - 10 upH. Estas diferencias de valores entre los tributarios podrían condicionar el comportamiento y la distribución de los metales presentes en cada uno de ellos.

En general, los tributarios no mostraron ser deficientes en **oxígeno**, ya que presentaron valores altos de oxígeno disuelto y porcentajes de saturación. Sin embargo, el arroyo de las Gallinas presentó los menores valores de oxígeno disuelto. Estos fueron de $\sim 4 \text{ mg.L}^{-1}$. Los menores valores registrados en este arroyo podrían estar relacionados con la menor velocidad de corriente que presenta en relación al resto (obs. pers.). Las cotas de altitud del área de estudio muestran que los tributarios de la cuenca de drenaje atraviesan diversas alturas, las cotas varían entre el nivel del mar y los 500 msnm (Maceira *et al.*, 2005). En el caso del recorrido del Arroyo de las Gallinas, la influencia de la morfología del terreno que recorre podría estar condicionando la menor velocidad de corriente que presenta. Además, otro factor que podría causar esta menor concentración de oxígeno disuelto, al igual que en el Arroyo Sotelo que también presentó niveles de oxígeno menores, puede ser la mayor concentración de materia orgánica presente en ambos arroyos con respecto al

resto de los tributarios, lo cual podría generar un mayor consumo de oxígeno por parte de ésta.

Con respecto a la **turbidez**, los valores fueron muy variados a lo largo del año y entre los tributarios. Esto sugiere que este parámetro en cada uno de ellos está influenciado por su morfología, corrientes, y condiciones meteorológicas como vientos y precipitaciones. Además, es posible también que el tipo de suelo que recorre cada afluente posea diferentes grados de consolidación y de esta forma el aporte de material es diferentes en cada uno de ellos.

Las concentraciones de los **compuestos nitrogenados** (amonio, nitrito y nitrato) fueron altas en todos los tributarios. Se presentaron grandes variaciones entre cada uno de ellos, lo cual sugiere que hay una gran influencia del recorrido que realizan y la zona que atraviesan hasta llegar a la laguna. Si bien todos ellos registraron valores altos, el Arroyo Grande y el Canal 7 fueron los que presentaron las mayores concentraciones, las cuales fueron hasta 5 veces mayores que en el resto. Las mayores concentraciones se presentaron hacia fines del otoño y en el invierno.

Las concentraciones de **DIP** presentes en el Arroyo Grande y Canal 7 fueron de hasta 9 veces mayores a las de los otros tributarios. Los mayores valores observados fueron muy altos, con un máximo de concentración de $88,28 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

Las concentraciones de DIN y DIP presentes en los tributarios, especialmente en el Arroyo Grande y Canal 7 fueron mayores que las observadas en la laguna. Por lo tanto es posible concluir que el Arroyo Grande y el Canal 7 son los que contribuyen en mayor grado con estos compuestos a la laguna, produciéndose un efecto de dilución luego de su ingreso en el cuerpo estuarial. Coincidentemente, estos dos afluentes (Canal 7 y Arroyo Grande) que presentan grandes concentraciones de DIN y DIP se cruzan a pocos kilómetros de llegar a la laguna y ambos llevan aguas desde las sierras de Balcarce, atravesando una extensa región - con intensa actividad agrícola-ganadera- indicando que en esa zona existe una intensa fuente de nutrientes nitrogenados.

Con respecto a los **silicatos** presentes en los tributarios, se observó un comportamiento similar en todos. Las concentraciones observadas fueron muy variadas a lo largo del año. Los silicatos usualmente no presentan fuentes

antropogénicas y, por lo tanto, pueden servir como indicadores de procesos ambientales de origen continental, por lo que se los considera un importante marcador de la magnitud de los aportes terrestres al sistema acuático. En este estudio, las concentraciones y comportamientos fueron similares en todos los tributarios, lo cual indicaría que a lo largo de todo su recorrido todos los tributarios van recorriendo diferentes suelos, pero todos atravesarían los mismos suelos con aportes similares.

Los valores de **M.O.P.** presentes en los Arroyos de las Gallinas y Sotelo fueron ampliamente los que presentaron los mayores valores y, por lo tanto, los que contribuyen en mayor medida con el aporte de M.O.P. hacia la laguna. Justamente estos dos arroyos son los que presentaron las menores concentraciones de oxígeno disuelto. Esta depleción de oxígeno se puede deber a la presencia de grandes concentraciones de M.O.P.

Los máximos valores de **clorofila a** presentes en todos los tributarios fueron altos. El Arroyo Sotelo presentó los mayores valores, seguido por el Arroyo de las Gallinas. Los máximos valores presentes fueron mayores a los presentes en la laguna. El pico de concentración máxima encontrado en el mes de noviembre coincidió con el pico de concentraciones mínimas de compuestos nitrogenados, posiblemente por un gran consumo de los mismos por parte del fitoplancton. Estos dos arroyos son emisarios de diferentes lagunas, éstas quizás sean muy productivas y como consecuencia contribuyen con altos niveles de pigmentos fotosintéticos. Además, se puede decir que los Arroyos de las Gallinas y Sotelo también son los que presentaron los mayores valores de M.O.P., lo cual sugiere que gran parte de esta materia orgánica se debe al fitoplancton. Los valores de **feopigmentos** fueron altos, en relación con los altos valores de clorofila *a*. Se presentaron diferentes picos de pigmentos a lo largo del año. Estos altos valores de pigmentos fotosintéticos también se deberían a los aportes por *runoff* de zonas tan productivas como los campos de la cuenca de drenaje.

El comportamiento del **MPS** en todos los tributarios fue similar, al igual que las concentraciones presentes. En todos los casos se observó un pico en el mes de noviembre, lo cual puede estar relacionado con precipitaciones en los días previos.

Las máximas concentraciones presentes fueron menores a las registradas en la laguna.

Las concentraciones de **metales disueltos y en MPS** presentes en los tributarios presentaron grandes variaciones a lo largo del año y entre cada uno de los afluentes.

Se observó presencia de **Cd disuelto** en todos los tributarios, aunque su comportamiento a lo largo del año fue diferente en cada uno. Los valores de Cd presentes en la laguna fueron menores. Por lo tanto, todos los tributarios contribuyen con este metal hacia la laguna, donde se produce un fenómeno de dilución. Las concentraciones de **Cd particulado** presente en todos los tributarios fue en general por debajo del LDM a lo largo del año.

En general, las concentraciones de **Pb disuelto** presentes fueron menores a 5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ o por debajo del LDM. El **Pb particulado** en los Arroyos de las gallinas, Grande y Vivorotá y en el Canal 5 prácticamente fue no detectable a lo largo de todo el año. Sin embargo, en el Arroyo Sotelo y en el Canal 7 se registraron grandes concentraciones. Esto indica que la principal fuente de Pb hacia la laguna es en forma particulada, transportada por el Arroyo Sotelo y el Canal 7.

En general, las concentraciones de **Cu disuelto** fueron bajas o no detectables, y el comportamiento fue diferente en todos los tributarios. El tributario que en mayor medida contribuiría con este metal disuelto a la laguna es el Arroyo de las Gallinas, aunque también el resto de los tributarios, a excepción del Arroyo Grande, contribuirían con este metal. Con respecto al **Cu particulado**, en general los tributarios no presentaron concentraciones detectables de este metal particulado. Aunque en ciertas ocasiones se detectaron altos niveles, con una concentración máxima de $\sim 750 \mu\text{g.g}^{-1}$.

Con respecto al **Cr disuelto**, se detectaron concentraciones presentes a lo largo de todo el año. El comportamiento de este metal fue similar en todos los tributarios. Por lo tanto, todos los tributarios contribuyen de igual forma con este metal hacia la laguna. Lo mismo sucede con el **Cr particulado**, el cual estuvo presente en todos los tributarios, aunque sus concentraciones fueron bajas.

Las concentraciones de **Ni disuelto** presente variaron a lo largo del año y entre cada tributario. El afluente que presentó las mayores concentraciones fue el Arroyo Vivoratá. Con respecto al **Ni particulado**, los arroyos de las Gallinas, Grande, Vivoratá y Canal 5 son los afluentes que aportarían en mayor proporción este metal particulado hacia la laguna.

Las concentraciones de **Fe disuelto** presentes en el agua fueron bajas a lo largo del año. Los afluentes que aportan Fe a la laguna son los Arroyos de las Gallinas y Vivoratá y el Canal 5. Sin embargo, la mayor parte de este metal se transporta de forma particulada. Se observaron grandes concentraciones de este metal particulado en todos los tributarios, por lo que todos aportan en mayor o menor medida este metal hacia la laguna.

Con respecto al **Zn disuelto** presente en los afluentes, presentó grandes variaciones a lo largo del año y entre los tributarios. Los tributarios que presentaron las mayores concentraciones fueron los Canales 5 y 7 y el Arroyo Vivoratá, con valores máximos cercanos a $250 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Las concentraciones de **Zn particulado** fueron muy altas en todos los afluentes, aunque los Arroyos Vivoratá, de las Gallinas y el Canal 5 son los que presentaron los mayores valores. Por lo tanto, este metal ingresa a la laguna tanto en la fase sólida como en fase particulada.

Con respecto al **Mn particulado**, las concentraciones presentes en todos los tributarios fueron altas. Las mayores concentraciones, cercanas a los $4000 \mu\text{mol.L}^{-1}$ se presentaron en los Arroyos de las Gallinas y Canal 5.

Los resultados del estudio preliminar realizado por Maceira *et al.* (2005) indican que el proceso general de intensificación agropecuaria que ha tenido lugar en los últimos años en toda la región pampeana también se reflejó en la cuenca de Mar Chiquita. Dentro del área estudiada (la Reserva MAB y el Refugio de Vida Silvestre), los cambios en el uso de la tierra y el aumento de los riesgos de impacto ambiental de la agricultura sobre los cursos de agua afluentes a la laguna tuvieron lugar en su mayor parte a ambos lados de la Ruta Nacional 11 y hacia el oeste de la misma, en la zona correspondiente al Refugio de Vida Silvestre Provincial. En esta zona se duplicó el área agrícola en los últimos seis años (1998-2004), proceso que estuvo a su vez acompañado por una disminución considerable del pastizal natural

de pastos altos. El avance agrícola se verificó como era de esperar sobre los suelos con menores restricciones. Dado que éstos coinciden topográficamente con las áreas más elevadas, y éstas a su vez con albardones de lagunas y ríos, el avance agrícola conlleva simultáneamente un mayor riesgo de impacto ambiental sobre los cuerpos de agua, sea en términos de contaminación con agroquímicos o de arrastre de suelo por procesos eventuales de anegamiento y escorrentía.

Por otro lado, si bien en el estudio de Maceira *et al.* (2005) se puso énfasis en los cambios y efectos ambientales de la agricultura, confirmó además que la ganadería también ejerce un impacto en el medio. El pastoreo del ganado en la vegetación ribereña y el empleo de los cursos y espejos de agua como abrevaderos naturales afecta las características físicas, químicas y biológicas de estos cuerpos de agua, aunque resta ser evaluado en términos ambientales. De las tierras aptas para la agricultura, actualmente sólo se ocupa con cultivos un 25,70 %, lo que indica que un mayor avance del área agrícola podría aún ocurrir en los próximos años, dependiendo de condiciones socio-económicas y climáticas (Maceira *et al.*, 2005)

En este estudio se observó que todos los afluentes estudiados transportan, en alguna medida, tanto nutrientes como metales pesados hacia la laguna. En algunos casos, las concentraciones presentes son extremadamente altas. De continuar este crecimiento desmedido del uso de suelos por actividades agrícola-ganaderas en la cuenca de Mar Chiquita, las concentraciones presentes en esta laguna irán aún más en aumento, lo cual generará un gran riesgo ambiental para este ecosistema.

III.5- CONCLUSIÓN

El estudio de las características de cada uno de los tributarios de la laguna costera Mar Chiquita es de vital importancia para el funcionamiento de este complejo ecosistema. El comportamiento de los nutrientes y metales pesados dentro de la cuenca hidrográfica de Mar Chiquita en último término se ve reflejado en la laguna.

Los datos indican que hay una gran presencia de nutrientes y metales pesados dentro de la cuenca, los cuales finalmente son depositados en la laguna.

El comportamiento de cada uno de los tributarios con respecto a los parámetros hidrológicos, nutrientes y metales pesados fue diferente. Cada uno de los tributarios presentó diferentes concentraciones de los compuestos estudiados de acuerdo a su recorrido y a las fuentes por las cuales atraviesa.

Si bien todos los afluentes transportan grandes concentraciones de nutrientes, el Arroyo Grande y el Canal 7 son los tributarios que aportan en mayor grado compuestos nitrogenados hacia la laguna, mientras que los metales pesados son transportados en diferentes magnitudes por cada uno de los tributarios.

Capítulo IV

BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN LA
ESPECIE CLAVE NEOHELICE GRANULATA
DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA
Y SU POTENCIAL USO COMO BIOMONITOR

**Capítulo IV.- BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN LA ESPECIE
CLAVE NEOHELICE GRANULATA DE LA LAGUNA COSTERA
MAR CHIQUITA Y SU POTENCIAL USO COMO BIOMONITOR**

IV-I.- INTRODUCCION

Los elementos trazas se encuentran en las aguas naturales a diversas concentraciones. Dentro de estos elementos, los potencialmente más peligrosos son los metales pesados, por ejemplo, Pb, Cd y Hg, y metaloides, como As y Se. La toxicidad, el transporte y el destino de los metales traza depende de las propiedades fisicoquímicas de cada uno de ellos.

Todos los invertebrados acuáticos incorporan metales traza tanto a partir de formas disueltas como a través de sus alimentos. Todos los metales pesados, tanto los esenciales como Cu, Zn, Mn e Fe, como los no esenciales, como por ejemplo el Cd y el Pb, pueden ser extremadamente tóxicos si los niveles metabólicamente disponibles dentro de los tejidos del organismo llegan a una concentración umbral (Rainbow *et al.*, 1999). Una vez que los metales ingresan al organismo son transportados por el interior del cuerpo y pueden seguir dos caminos: ser acumulados en diferentes órganos usualmente en formas detoxificadas, como por ejemplo metalotioneínas o gránulos; o, por otro lado, pueden ser excretados (Phillips y Rainbow, 1994). Los mecanismos fisiológicos implementados por los organismos varían entre los invertebrados, aún entre grupos filogenéticamente relacionados como los crustáceos (Rainbow, 1998).

Los metales pesados poseen una gran afinidad por el sulfuro, y en los organismos marinos, atacan a los grupos tioles de las proteínas inactivándolas. Otros sitios vulnerables en las proteínas son los grupos carboxílicos (-CO₂H) y aminos (-NH₂). Los niveles corporales de metales pesados como el Cu y el Zn pueden ser regulados por muchos crustáceos, especialmente los crustáceos decápodos, a concentraciones corporales relativamente constantes en presencia de un amplio rango de concentraciones de metales biodisponibles en el ambiente. La acumulación

de estos metales sólo ocurre luego de que los organismos son expuestos a altas concentraciones del medio externo (Rainbow y White, 1989; Rainbow, 1998). En contraste, los niveles corporales de metales no esenciales como el Hg, Cd y Pb no pueden ser regulados por los crustáceos (Krishnaja *et al.*, 1987; Pastor *et al.*, 1988); y, en estos casos, las concentraciones corporales se encuentran directamente relacionadas con las concentraciones ambientales.

Las concentraciones ambientales de metales pesados, provenientes tanto de aportes naturales como antropogénicos, influyen en la biodisponibilidad de los mismos dentro de los sistemas acuáticos. Esta fracción biodisponible, es usualmente determinada a partir de mediciones de la acumulación en organismos, el cual es el principal propósito de los programas de biomonitoreo (Rainbow, 1993).

La mayoría de los programas de monitoreo de contaminantes presentes en ambientes acuáticos sólo realizan mediciones de los niveles del contaminante presente en el ambiente, ya sea en agua, sedimentos y/o en material particulado en suspensión. Sin embargo, estas mediciones de los niveles ambientales sólo reflejan una situación momentánea, y brindan predicciones pobres sobre los niveles y efectos que estos contaminantes generan sobre los organismos acuáticos. Además, la biodisponibilidad de los metales pesados es determinada tanto por factores abióticos (como por ejemplo pH, temperatura, grado de complejación) como por factores bióticos (superficies de intercambio, dieta, especie, sexo) (Rainbow, 1998).

Los biomonitores 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 periodo de tiempo previo al estudio en el lugar de estudio determinado (Phillips y Rainbow, 1994; Rainbow, 1995a). Un biomonitor de contaminación por metales pesados, estrictamente provee información sobre las disponibilidades de metales presentes en el ambiente específicamente para esa especie; aunque la extrapolación de los resultados obtenidos para ese biomonitor y, de esta forma, la obtención de conclusiones sobre las disponibilidades en general es frecuentemente considerada válida.

La fracción biodisponible de metales representa a la ecotoxicológicamente más significativa en el ambiente. 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 y Rainbow, 1993; Fialkowski *et al.*, 2003a, b; Rainbow *et al.*, 2004).

Un indicador biológico puede ser definido como una variación bioquímica, celular, fisiológica o comportamental medida en los tejidos o fluidos corporales de un organismo, o el nivel del organismo completo o población que provee evidencia de la exposición y efectos de uno o más contaminantes químicos (Phillips y Rainbow, 1993; Depledge y Fossi, 1994). Además, un indicador biológico efectivo debe reflejar los niveles de contaminación ambiental y mantener una relación espacial y temporalmente constante entre el parámetro medido y las concentraciones del contaminante presente en el ambiente (Depledge y Fossi, 1994).

Los biomonitores (o bioindicadores), deben ser relativamente sedentarios o residentes del área de interés, fácilmente identificables, abundantes, de vida relativamente larga; además deben poder ser recolectados a lo largo de todo el año y poseer una amplia distribución. Deben ser relativamente tolerantes a los contaminantes ambientales, acumuladores de los contaminantes en cuestión y proveer de suficiente tejido para los análisis individuales (Rainbow, 1995b).

La especie *Neohelice granulata* (Brachyura, Grapsoidea, Varunidae) se distribuye ampliamente en el intermareal atlántico sudamericano, desde la Bahía de Paranaguá (Brasil) hasta la Bahía San Antonio (Argentina) (Spivak, 1997). Su distribución no es continua, sino que generalmente habita en zonas estuariales, como marismas o cuerpos de salinidad intermedia. En Argentina forma parte de una comunidad conocida como "cangrejal bonaerense" (Boschi, 1964; Botto y Irigoyen, 1979). En la laguna costera Mar Chiquita se encuentra una población numerosa de esta especie excavadora, asociada tanto a las praderas de *Spartina densiflora* como a las planicies barrosas de inundación (Boschi, 1964; Iribarne *et al.*, 1997), inclusive a cientos de metros de la costa y en zonas con intensos gradientes de salinidad (Spivak *et al.*, 1994). Esta especie es la bioturbadora dominante de esta laguna costera (Botto, 2001),

y produce grandes impactos en este tipo de ambientes (Bertness, 1985), tanto en la granulometría del sedimento como en sus condiciones físicoquímicas (Levington, 1989). La construcción de sus cuevas afecta la dinámica del ambiente, tiene efectos sobre el movimiento de partículas y fluidos cercanos al fondo y funciona como "trampa" para materia orgánica (Botto y Iribarne, 2000) y de desechos tóxicos (Iribarne *et al.*, 2000, Menone *et al.*, 2000). También produce modificaciones en las cargas de nutrientes hacia las aguas freáticas que entran a las aguas costeras (Fanjul *et al.*, 2008). La importancia trófica de *N. granulata* está principalmente relacionada con la transferencia de materia y energía que realiza al alimentarse en el ambiente costero semiterrestre, e incursionar en el ambiente netamente acuático, donde tanto larvas como adultos de cangrejos pueden ser presa de alevinos y adultos de peces respectivamente, cuyos hábitos carcinófagos e importancia pesquera han sido documentados (Menni, 1983; Martinetto, 2001). *N. granulata* es considerada una especie omnívora - detritívora, y en su dieta se encuentran, en orden de importancia, restos de *Spartina* sp., detrito (principalmente restos descompuestos de plantas halófitas y sedimento), microflagelados, foraminíferos, diatomeas, ostrácodos, cianofíceas, restos de insectos y de crustáceos decápodos, además de gran cantidad de arena y fango (Botto y Irigoyen, 1979). En este sentido, en la laguna Mar Chiquita se han citado diferencias en el modo de alimentación, remoción de sedimento y formación de las cuevas de *N. granulata* según su hábitat (Iribarne *et al.*, 1997; Botto y Iribarne, 2000). En cuanto al ciclo reproductivo de esta especie, se conoce que los adultos se aparean durante los meses de primavera y verano, en tanto el desove de las hembras se produce durante fines de primavera, verano y comienzos del otoño (Spivak *et al.*, 1994; Ituarte *et al.*, 2004). Como una especie clave de esta laguna costera, este cangrejo juega un rol principal en la transferencia de contaminantes a los niveles tróficos superiores.

Estas características colocan a esta especie como un candidato potencial como indicador biológico o biomonitor, lo que permitirá proveer información integrada tanto de los contaminantes presentes en el agua como en los sedimentos.

Los crustáceos decápodos no han sido muy utilizados como bioindicadores de contaminación por metales pesados debido a su capacidad de regular

metabólicamente los metales pesados esenciales. Sin embargo, los decápodos tienden a ser efectivos bioacumuladores de metales pesados no esenciales, reflejando los niveles ambientales, y pueden ser empleados como bioindicadores de estos metales (Rainbow y White, 1990).

En la laguna costera Mar Chiquita, se observó un fuerte ingreso de metales pesados tanto esenciales como no esenciales derivados principalmente de las actividades agrícolas y ganaderas que se desarrollan dentro de su cuenca de drenaje (Capítulo II).

Para poder lograr un monitoreo integral de los metales pesados dentro de este ambiente y poder conocer su biodisponibilidad, el objetivo del presente capítulo fue:

-Estudiar la bioacumulación de metales pesados en la especie clave *Neohelice granulata* de la laguna costera Mar Chiquita, e inferir su potencial como biomonitor de metales pesados en el ambiente.

Los objetivos específicos de este capítulo fueron:

- Determinar y cuantificar la acumulación de los metales pesados Cd, Cu, Pb, Zn, Ni, Cr, Mn y Fe en hepatopáncreas de machos y hembras adultos del cangrejo cavador *Neohelice granulata*.
- Comparar los niveles y patrones de acumulación estacional de estos metales pesados en hepatopáncreas de los organismos estudiados.
- Comparar los niveles y patrones de acumulación espacial de estos metales pesados en hepatopáncreas del cangrejo cavador entre cangrejales ubicados en marismas y en planicies de marea descubiertas de la laguna costera Mar Chiquita.
- Determinar y cuantificar la acumulación de los metales estudiados en huevos de hembras ovígeras de *N. granulata*.
- Comparar los niveles y patrones de acumulación de estos metales pesados en diferentes estadios del desarrollo embrionario en huevos de hembras ovígeras de *N. granulata* de la laguna costera Mar Chiquita.
- Comparar los niveles y patrones de acumulación de los metales pesados durante el desarrollo embrionario en huevos de hembras ovígeras del

cangrejo cavador entre cangrejales ubicados en marismas y en planicies de marea descubiertas de la laguna costera Mar Chiquita.

- Evaluar la potencialidad de uso del cangrejo cavador *N.e granulata* como biomonitor de metales pesados en la laguna costera Mar Chiquita.

IV.2- MATERIALES Y METODOS

IV.2.1- Obtención de los organismos

Para la determinación de metales pesados en hepatopáncreas de machos y hembras adultas se recolectaron manualmente individuos de dos cangrejales separados, ubicados en zonas de la laguna Mar Chiquita que presentan características diferentes (*Figura IV.1*). Uno de los cangrejales se ubica dentro de un espartillar, dominado por la especie *Spartina densiflora*, y el otro en una planicie de marea descubierta. En cada zona de muestreo se recolectaron un total de 40 organismos de cada sexo. Se descartaron aquellos organismos que presentaban pérdidas de miembros u otras anomalías. La talla mínima recolectada para las hembras fue de 2.0 cm y la de machos fue de 2.5 cm. Se realizaron un total de cuatro muestreos, en cada una de las estaciones del año. Las fechas de muestreo fueron: 02/11/06 (primavera), 17/01/2007 (verano), 20/05/2007 (otoño) y 29/08/2007 (invierno).

Para la determinación de metales pesados en huevos de distintos estadios de desarrollo se recolectaron hembras ovígeras en los dos mismos sitios de muestreo que se mencionaron en el párrafo anterior. La talla mínima de las hembras ovígeras recolectadas fue de 2.0 cm, y se descartaron aquellas que presentaban pérdidas de miembros u otras anomalías.

En ambos casos, los individuos fueron transportados hasta el laboratorio en recipientes plásticos cubiertos con agua de la laguna.



Figura IV.1. CANGREJALES SELECCIONADOS PARA LA RECOLECCION DE LAS MUESTRAS DE HEPATOPÁNCREAS Y HUEVOS DE *NEOHELICE GRANULATA*

IV.2.2- Obtención de hepatopáncreas

Una vez en el laboratorio, los cangrejos fueron colocados sobre hielo con el fin de crioanestésiarlos. Luego se les midió el ancho máximo de caparazón con calibre digital milimétrico y finalmente los ejemplares fueron enjuagados cuidadosamente con agua bidestilada. Se tomaron medidas de precaución para prevenir la contaminación de las muestras durante la disección, de manera que todo el material utilizado fue lavado previamente con ácido nítrico y acondicionado, siguiendo las recomendaciones propuestas por APHA-AWWA-WEF (1998).

Los individuos fueron diseccionados cuidadosamente, de forma tal de obtener el hepatopáncreas de cada uno. Cada hepatopáncreas fue colocado sobre un papel absorbente para permitir el drenaje de los líquidos. Se realizaron *pooles* de 5 individuos con el fin de lograr el peso de hepatopáncreas deseado. En cada sitio de muestreo el número de *pooles* analizados en cada estación del año fue de siete. Luego los *pooles* fueron colocados en cápsulas de Petri acondicionadas y secados en estufa a 60° C por aproximadamente 5 días hasta lograr un peso constante. Una vez secas, las muestras fueron homogeneizadas en mortero de porcelana hasta obtener harinas de cada una de ellas e inmediatamente colocadas en tubos de ensayo para la determinación de metales pesados.

IV.2.3- Obtención de las muestras de huevos

Una vez en el laboratorio, de cada una de las hembras se tomó una pequeña muestra de huevos que fueron inspeccionados bajo microscopio óptico con el fin de clasificar a las hembras de acuerdo al estadio de desarrollo embrionario en los que se encontraban sus huevos. Siguiendo la clasificación descrita por Bas y Spivak (2000) de cada uno de los estadios del desarrollo embrionario, los huevos fueron clasificados en tres grupos de acuerdo al estadio de desarrollo: desarrollo temprano (estadios 1, 2 y 3), desarrollo intermedio (estadios 4, 5, 6 y 7) y desarrollo tardío (estadios 8 y 9).

Una vez clasificados los huevos de cada una de las hembras, a cada una se le extrajo la masa completa de huevos los cuales fueron enjuagados con agua bidestilada. Se realizaron *pooles* de huevos de 3 hembras cada uno con el fin de lograr el peso deseado. En cada sitio de muestreo, el total de *pooles* analizados por cada estadio de desarrollo fue de seis. Finalmente los *pooles* fueron colocados en cápsulas de Petri y llevados a estufa a 60° C durante aproximadamente 2 días, hasta lograr un peso constante. Finalmente las muestras fueron homogeneizadas en mortero de porcelana, hasta obtener harinas de cada una de ellas e inmediatamente colocadas en tubos de ensayo para la determinación de metales pesados.

IV.2.4- Determinación de metales pesados en hepatopáncreas y huevos

La determinación del contenido de metales en cada una de las muestras fue realizada por duplicado. Los metales Cd, Pb, Cr, Ni, Cu, Zn, Mn y Fe se determinaron utilizando el método descrito por Marcovecchio y Ferrer (2005). La metodología se basa en la destrucción del mayor porcentaje posible de la materia orgánica presente en las muestras por “mineralización húmeda” con una mezcla de ácidos minerales. Se trabaja a temperatura controlada, con reducción del volumen hasta casi sequedad y posterior dilución con ácido nítrico al 0.7%.

Para llevar a cabo esta determinación, se colocaron 250-300 mg de cada una de las muestras secas en tubos de ensayo con un tamaño de boca de 3 cm. A cada tubo

se le agregó 3 ml de ácido nítrico (HNO₃) y 1 ml de ácido perclórico (HClO₄) concentrados.

La mineralización de las muestras se llevó a cabo en un baño de glicerina sobre una plancha calefactora, a una temperatura de $110 \pm 10^{\circ}\text{C}$ y agitando suavemente de forma manual cada 20-30 minutos. En los casos en que fue necesario se agregaron cantidades adicionales de HNO₃ concentrado. Una vez completada la mineralización y obtenido un extracto de 1 ml aproximadamente, los tubos se retiraron del baño y se dejaron enfriar. Cada extracto se trasvasó con pipeta Pasteur a tubos de centrífuga graduados con tapa esmerilada. El tubo de ensayo fue enjuagado 3-4 veces con solución acuosa de ácido nítrico 0.7% v/v, y cada enjuague se trasvasó al tubo graduado enrasando a un volumen de 10 ml.

Las lecturas de absorbancia de los extractos se hicieron en un espectrofotómetro de absorción atómica (EAA), con llama aire-acetileno. En cada tanda de lectura se trabajó con dos blancos de reactivo. Todos los blancos fueron tratados de igual forma que las muestras.

Las características del equipo y método utilizado se describen en el Capítulo II. En este caso, el material de referencia utilizado fue harina de mejillón (*muschel tissue flour*, R.M. N°6), provisto por el National Institute for Environmental Studies (NIES, Tsukuba, Japón). Los porcentajes de recuperación del material de referencia para determinar la calidad analítica del análisis de cada metal se muestran en la **Tabla IV.1**. Los límites de detección del método empleado para cada metal analizado se muestran en la **Tabla IV.2**.

TABLA IV.1. PORCENTAJES DE RECUPERACIÓN EN LOS ANÁLISIS DEL MATERIAL DE REFERENCIA (NIES) PARA DETERMINAR LA CALIDAD ANALÍTICA (RANGOS)

Metal analizado	Organismos
Cu	93,1 - 97,9 %
Zn	96,5 - 102,3 %
Cd	92,4 - 98,7 %
Pb	95,3 - 99,8 %
Cr	97,4 - 100,3 %
Mn	91,2 - 97,9 %
Fe	95,6 - 101,7 %

TABLA IV.2. LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO (LDM), SEGÚN EL MÉTODO APLICADO EN LA MATRIZ ANALIZADA

Matriz		Cd	Pb	Cr	Ni	Cu	Zn	Mn	Fe
Organismos	$\mu\text{g/ml}$	0,01	0,11	0,01	0,08	0,04	0,04	0,03	0,14
	$\mu\text{g/g}$	0,27	2,15	0,29	1,54	0,77	0,88	0,58	2,73

NOTA

Todo el material utilizado durante la toma, disección y análisis de las muestras en cada caso estuvo previamente acondicionado de acuerdo con la metodología propuesta por APHA-AWWA-WEF (1998). El mismo fue lavado con solución detergente no iónica y enjuagado con agua corriente y finalmente con agua destilada. Luego fue sumergido en solución acuosa de ácido nítrico 0,7% v/v durante al menos 24-48 horas, y nuevamente enjuagado tres veces con agua destilada.

IV.2.5- Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados incluyó las pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y de homocedasticidad (Test de Bartlett), con el fin de establecer si se cumplen los supuestos necesarios para utilizar los métodos paramétricos, y cuando estos supuestos no se comprobaron se procedió a la transformación de los datos (logaritmo).

Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias en la bioacumulación entre cangreiales y entre sexos para cada metal. En los casos en que las diferencias fueron significativas (nivel de significancia de 0,05) se procedió a realizar el test de comparación múltiple de medias (Método de Holm-Sidak).

En los casos en que los valores fueron no detectables, para el análisis estadístico de los datos el valor utilizado en cada caso fue la mitad del límite de detección del método analítico empleado.

Los análisis se llevaron a cabo utilizando el programa Sigmastat Software 3.0®.

IV- RESULTADOS

En la *Tabla IV.3* se presentan las tallas de los individuos muestreados en cada una de las estaciones del año. En el cangrejal ubicado en el espartillar la talla promedio de las hembras fue de $2,54 \pm 0,328$, $2,724 \pm 0,202$, $2,756 \pm 0,291$ y $2,733 \pm 0,374$ cm; y la de machos de $3,079 \pm 0,306$, $3,231 \pm 0,245$, $3,167 \pm 0,277$ y $3,203 \pm 0,282$ cm durante el invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente. En tanto, en el cangrejal ubicado en la planicie de marea descubierta, la talla promedio para las hembras fue de $2,793 \pm 0,277$, $2,904 \pm 0,214$, $2,777 \pm 0,310$ y $2,894 \pm 0,26$ cm; y la de machos fue de $3,187 \pm 0,309$, $3,257 \pm 0,215$, $2,939 \pm 0,359$ y $3,317 \pm 0,248$ cm durante los muestreos de invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente.

TABLA IV.3: TALLA PROMEDIO (cm) DE LOS ORGANISMOS RECOLECTADOS EN LAS CUATRO ESTACIONES MUESTREADAS EN ESPARTILLAR Y PLANICIE DE MAREA DESCUBIERTA

estaciones		Talla promedio \pm DS (cm)			
		invierno	primavera	verano	otoño
Espartillar	macho (δ)	3,079 \pm 0,306	3,231 \pm 0,245	3,167 \pm 0,277	3,203 \pm 0,282
	hembra (φ)	2,54 \pm 0,328	2,724 \pm 0,202	2,756 \pm 0,291	2,733 \pm 0,374
Planicie descubierta	macho (δ)	3,187 \pm 0,309	3,257 \pm 0,215	2,939 \pm 0,359	3,317 \pm 0,248
	hembra (φ)	2,793 \pm 0,277	2,904 \pm 0,214	2,777 \pm 0,310	2,894 \pm 0,26

DS: desviación estándar

Las concentraciones de los metales pesados Zn, Fe y Cu fueron, en todos los casos, mayores al límite de detección del método empleado. En el caso de Cd, Mn, Ni, Pb y Cr, en algunas ocasiones los valores determinados fueron inferiores al límite de detección. En este último caso, los valores se indican como nd (no detectados) (*Tabla IV.4*). En la *Tabla IV.5* se indican las concentraciones medias anuales para cada sexo y cangrejal.

Los niveles de **Cd** presentes en **hepatopáncreas** estuvieron dentro de un rango de nd - 2,13 $\mu\text{g.g}^{-1}$ y entre nd - 1m51 en hembras y machos del cangrejal ubicado en el espartillar, respectivamente, mientras que el rango para los individuos del cangrejal ubicado en la planicie de marea fue de nd - 2,11 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y de nd - 2,01 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en machos. A partir de los análisis estadísticos, se puede observar que existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la acumulación de Cd en hepatopáncreas a lo largo del año, a excepción de las hembras del espartillar. Las mayores concentraciones se presentaron durante los meses de primavera y/o verano, y las menores en los meses de otoño y/o invierno. Los niveles medios determinados a lo largo del año en cada cangrejal fueron de $0,49 \pm 0,45 \mu\text{g.g}^{-1}$ en el espartillar y de $0,59 \pm 0,57 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la planicie de marea descubierta, los cuales no mostraron diferencias significativas. Tampoco se observaron diferencias significativas en la acumulación de este metal con relación al sexo.

Las concentraciones de **Pb** en hepatopáncreas fueron muy fluctuantes a lo largo del año. En el espartillar, las concentraciones presentes estuvieron entre nd - 29,4 $\mu\text{g.g}^{-1}$, y nd - 19,37 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y machos respectivamente, y en la planicie de marea descubierta estuvieron entre nd - 37,36 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras, y nd - 18,52 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en machos. En todos los casos se detectaron concentraciones muy bajas o no detectables durante los meses de otoño e invierno, aunque no fueron estadísticamente significativas. Las mayores concentraciones se presentaron durante la primavera y verano. En el cangrejal ubicado en la planicie de marea, los análisis estadísticos indican que se observa una mayor presencia de este metal en los machos durante la primavera. Los valores medios para cada uno de los cangrejales fueron de $3,33 \pm 7,58 \mu\text{g.g}^{-1}$ en el espartillar y de $3,13 \pm 6,81 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la planicie de marea descubierta. No se observaron diferencias significativas con respecto al sitio de muestreo ni al sexo.

Los valores de **Cu** determinados, en algunos casos, estuvieron dentro de un amplio rango de concentraciones. En el espartillar, los valores fluctuaron entre 13,74 - 4443,98 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y entre 23,24 - 162,52 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en machos, mientras que en la planicie de marea, los valores fueron entre 17,54 - 886,12 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y

entre 7,08 - 3113,45 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en machos. En todos los casos, a excepción de las concentraciones presentes en machos del espartillar, los análisis estadísticos indican que existen concentraciones mayores de Cu en hepatopáncreas durante la primavera en comparación con el resto del año. Con respecto a las concentraciones medias presentes en ambos sexos y en ambos sitios de muestreo, no se observaron diferencias significativas.

Los niveles de **Zn** determinados en hepatopáncreas de hembras de ambos sitios de muestreo ($55,33 \pm 15,80 \mu\text{g.g}^{-1}$ en espartillar y $57,27 \pm 19,06 \mu\text{g.g}^{-1}$ en planicie de marea) fueron mayores a los presentes en hepatopáncreas de machos ($39,09 \pm 6,91 \mu\text{g.g}^{-1}$ en espartillar y $43,33 \pm 10,83 \mu\text{g.g}^{-1}$ en planicie de marea). Las concentraciones en hembras también mostraron variaciones a lo largo del año. Los mayores valores presentes de Zn se registraron durante la primavera en hembras de ambos sitios de muestreo. En cambio, en machos no se observaron variaciones a lo largo del año. Las concentraciones medias en ambos sitios de estudio ($47,86 \pm 14,97 \mu\text{g.g}^{-1}$ en el espartillar y $50,01 \pm 16,72 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la planicie de marea) no fueron significativamente diferentes.

Con respecto al **Cr**, tanto en machos como en hembras de ambos sitios de muestreo las mayores concentraciones se observaron durante la primavera. Estas concentraciones fueron significativamente mayores que las del resto de las estaciones del año. Los valores fueron de $1,87 \pm 1,18$ y $1,98 \pm 1,22 \mu\text{g.g}^{-1}$ en machos y de $3,12 \pm 1,54$ y $2,56 \pm 1,45 \mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras de planicie descubierta y espartillar respectivamente. En todos los casos, durante el otoño los valores fueron no detectables. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la acumulación de este metal en ambos sexos y sitios de muestreo.

Los niveles de **Mn** presentes en hepatopáncreas estuvieron dentro de un rango de nd - $19,73 \mu\text{g.g}^{-1}$ y de nd - $14,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y machos del espartillar, respectivamente; mientras que en la planicie de marea los valores estuvieron entre nd - $25,86 \mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y entre nd - $19,74 \mu\text{g.g}^{-1}$ en machos. En ambos sitios de muestreo, los análisis estadísticos mostraron que tanto machos como hembras presentaron valores más altos de este metal en los meses de primavera y verano. En otoño, en ambas estaciones los valores fueron no detectables.

No se observaron diferencias significativas en cuanto a la acumulación de Mn en ambos sexos y sitios de muestreo.

A diferencia de los metales mencionados anteriormente, el Ni mostró un comportamiento diferente. Las mayores concentraciones de este metal se presentaron en otoño y/o invierno, tanto en el espartillar como en la planicie de marea descubierta. Los valores promedio más altos registrados en todos los casos fueron en otoño, presentando valores de $5,227 \pm 1,146$ y $5,04 \pm 1,06 \mu\text{g.g}^{-1}$ en machos y de $5,48 \pm 0,52$ y $6,83 \pm 1,10 \mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras de planicie de marea y espartillar, respectivamente. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos y sitios.

Finalmente, las concentraciones de Fe determinadas en hepatopáncreas a lo largo del año fluctuaron entre 374 - 1281 y 176,21 - 1261 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y machos del espartillar, y entre 253,18 - 1315,2 y 244,5 - 1330 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en hembras y machos de la planicie de marea. En cuanto a los valores presentes a lo largo del año, en las hembras del espartillar no se observaron variaciones. En cambio, en las hembras de la planicie de marea, los mayores valores se presentaron en verano. Con respecto a los machos, en el espartillar los menores valores se presentaron durante la primavera y en la planicie de marea descubierta no se observaron diferencias a lo largo del año. Tampoco se observaron diferencias en cuanto a la acumulación de este metal entre los sitios de muestreo y entre sexos.

Las concentraciones de metales esenciales determinadas fueron notablemente superiores a las de los no esenciales.

Tabla IV.4- CONCENTRACIONES MEDIAS ESTACIONALES ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) Y DESVIACIONES ESTANDARES DE METALES PESADOS EN HEPATOPÁNCREAS DE *NEOHELICE GRANULATA* EN LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA.

HEPATOPANCREAS						
metal	sexo	sitio	primavera	verano	otoño	invierno
Cd	macho (♂)	D	0,71±0,51 ^c	1,22±0,59 ^a	0,42±0,24 ^{bc}	0,11±0,14 ^b
		E	0,34±0,29 ^a	0,81±0,42 ^b	0,38±0,17 ^a	0,12±0,067 ^a
	hembra (♀)	D	1,10±0,66 ^a	0,83±0,60 ^a	0,47±0,086 ^a	0,12±0,25 ^b
		E	0,82±0,75	0,92±0,48	0,33±0,29	0,34±0,17
Pb	macho (♂)	D	8,12±8,27 ^a	2,98±2,39	nd ^b	0,28±0,32 ^b
		E	5,54±8,76	3,21±1,91	nd	nd
	hembra (♀)	D	6,62±15,09	6,55±4,43	nd	0,19±0,31
		E	11,97±14,96	4,83±2,54	nd	0,14±0,35
Zn	macho (♂)	D	49,85±11,89	45,55±9,81	40,55±11,21	36,27±6,08
		E	37,91±7,20	44,77±7,36	37,62±4,20	37,00 ±7,45
	hembra (♀)	D	76,99±23,78 ^a	60,23±10,20	42,31±5,25 ^b	50,040±10,72 ^b
		E	73,27±16,52 ^a	47,46±5,57 ^b	48,15±4,01 ^b	46,83±9,38 ^b
Cu	macho (♂)	D	1442,10±1183,66 ^a	241,44±101,82 ^b	44,98±32,74 ^b	55,70±18,45 ^b
		E	56,79±27,98	69,96±25,62	82,99±46,80	49,53±17,18
	hembra (♀)	D	555,35±234,46 ^a	88,21±22,98 ^b	37,73±20,27 ^b	91,08±33,31 ^b
		E	1672,34±1868,24 ^a	71,76±33,90 ^b	61,85±25,41 ^b	86,17±17,47 ^b

Continuación...						
Mn	macho (♂)	D	10,21±4,64 ^a	9,25±2,29 ^{ac}	nd ^b	5,80±2,26 ^c
		E	7,51±1,72 ^a	8,64±3,25 ^a	nd ^b	3,79±1,73 ^c
	hembra (♀)	D	17,58±6,47 ^a	14,80±6,84 ^a	nd ^b	4,01±1,72 ^b
		E	15,87±3,04 ^a	12,47±2,47 ^b	nd ^c	4,27±1,48 ^d
Fe	macho (♂)	D	474,61±115,98	611,52±114,19	650,50±384,51	44,50±227,79
		E	396,57±113,21 ^a	756,08±184,01 ^{bc}	753,17±308,77 ^{bc}	595,0±257,16 ^{ac}
	hembra (♀)	D	435,55±237,63 ^{bc}	779,71±376,17 ^a	557,0±64,45 ^{ac}	250,0±124,63 ^b
		E	532,38±137,97	861,08±298,02	709,67±146,73	642,17±259,00
Ni	macho (♂)	D	1,90±1,31 ^a	2,35±2,06 ^a	5,23±1,15 ^b	3,38±0,84 ^a
		E	2,40±2,47 ^{ac}	0,62±1,39 ^a	5,04±1,06 ^b	4,08±1,13 ^{bc}
	hembra (♀)	D	3,55±2,23 ^c	0,87±1,95 ^a	5,48±0,52 ^b	3,78±0,90 ^{bc}
		E	3,10±3,05 ^{cd}	0,32±0,64 ^{ac}	6,83±1,10 ^b	5,452±2,21 ^{bd}
Cr	macho (♂)	D	1,87±1,18 ^a	0,49±0,47 ^b	nd ^b	0,07±0,08 ^b
		E	1,98±1,22 ^a	0,30±0,24 ^b	nd ^b	0,73±0,51 ^b
	hembra (♀)	D	3,12±1,54 ^a	1,27±1,97 ^b	nd ^b	0,31±0,48 ^b
		E	2,56±1,45 ^a	0,44±0,36 ^b	nd ^b	0,61±0,42 ^b

*D: planicie de marea descubierta, E: espartillar

** Medias en una misma línea con diferente superíndice indica que existen diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) entre estaciones.

*** N.d.: no detectado

Tabla IV.5- CONCENTRACIONES MEDIAS ANUALES ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) Y DESVIACIONES ESTANDARES DE METALES PESADOS EN HEPATOPÁNCREAS DE MACHOS Y HEMBRAS DE *NEOHELICE GRANULATA* EN CANGREJALES DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

metal	Espartillar			Planicie descubierta		
	Macho (♂)	Hembra (♀)	Media	Macho (♂)	Hembra (♀)	Media
Cd	0,39±0,35	0,58±0,53	0,49±0,45	0,62±0,57	0,62±0,57	0,59±0,57
Pb	2,14±4,90	4,52±9,51	3,33±7,58	3,06±5,48	3,20±8,15	3,13±6,81
Zn	39,09±6,91 ^a	55,33±15,80 ^b	47,86±14,97	43,33±10,83 ^a	57,27±19,06 ^b	50,01±16,72
Cu	64,59±32,24	560,06±1232,16	312,33±897,49	485,89±853,93	171,96±220,47	335,47±93,57
Mn	4,82±3,90	8,11±6,96	6,47±5,82	6,48±4,92	8,85±8,68	7,62±7,00
Fe	619,51±261,91	664,43±225,20	641,97±242,58	543,66±235,17	493,65±284,47	519,69±258,37
Ni	3,14±2,26	4,21±3,07	3,67±2,72	3,16±1,86	3,52±2,17	3,34±2,00
Cr	0,77±1,01	1,01±1,33	0,89±1,18	0,66±1,01	1,17±1,71	0,90±1,40

* Medias en una misma línea con diferente superíndice indica que existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre ambos sexos de un mismo cangrejal.

En cuanto a la acumulación de metales pesados en **huevos** de *Neohelice granulata* las concentraciones determinadas presentaron comportamientos diferentes a los de los hepatopáncreas. Algunos metales presentaron concentraciones similares a las observadas en hepatopáncreas, mientras que en otros casos las concentraciones fueron mayores o menores.

Las concentraciones medias de **Cd** fueron de $0,51 \pm 0,30$ y $0,52 \pm 0,25 \mu\text{g.g}^{-1}$ en los cangrejales del espartillar y de la planicie de marea, respectivamente. Los valores determinados presentaron una gran variabilidad en ambos sitios de estudio. Las concentraciones medias fueron similares a las detectadas en hepatopáncreas.

Los valores medios de **Pb** determinados en los huevos de las hembras del espartillar y de la planicie de marea fueron de $0,94 \pm 1,37$ y $1,29 \pm 2,10 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. En ambos sitios se observó una gran variabilidad de los valores obtenidos. Las concentraciones medias fueron menores a las detectadas en hepatopáncreas.

Con respecto al **Cu**, las concentraciones medias presentes en los huevos de ambos cangrejales fueron de $46,83 \pm 10,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la planicie de marea y de $47,03 \pm 10,88 \mu\text{g.g}^{-1}$ en el espartillar. Las concentraciones medias de Cu determinadas en hepatopáncreas fueron mucho mayores que las determinadas en los huevos.

Las concentraciones medias de **Zn** fueron de $79,32 \pm 5,31 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la planicie de mareas y de $82,53 \pm 6,80 \mu\text{g.g}^{-1}$ en el espartillar. Las concentraciones medias de Zn presentes en huevos fueron mayores a las de hepatopáncreas.

Los valores medios de **Cr** en la planicie de marea y en el espartillar fueron de $1,26 \pm 0,79$ y de $1,13 \pm 0,69 \mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente. Estos valores medios fueron similares a los presentes en hepatopáncreas.

En cuanto a las concentraciones de **Ni** presentes en huevos fueron de $2,92 \pm 2,34 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la planicie de marea y de $4,44 \pm 3,34 \mu\text{g.g}^{-1}$ en el espartillar, y presentaron una alta variabilidad. Estos valores medios fueron similares a las concentraciones presentes en hepatopáncreas.

Para los metales Cd, Pb, Cu, Cr, Ni y Zn no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre cada estadio de desarrollo ni entre ambos cangrejales.

En cambio, el comportamiento del **Mn** en ambos sitios de muestreo fue diferente. El valor medio de este metal presente en los huevos de hembras de la planicie de marea fue de $45,96 \pm 17,12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, que resultó estadísticamente superior al valor medio observado en el espartillar ($15,90 \pm 9,52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). En las hembras del espartillar, los huevos presentaron concentraciones similares a lo largo del desarrollo embrionario. Mientras que en las hembras de la planicie de marea, los huevos presentaron concentraciones mayores de Ni en los estadios intermedio y maduro (*Tabla IV.6*).

Finalmente, con respecto a los valores de **Fe**, las hembras de la planicie de marea presentaron concentraciones medias mayores ($948,05 \pm 298,00 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de hierro en sus huevos con respecto a las hembras del espartillar ($471,15 \pm 188,61 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). En ambos cangrejales, los estadios intermedio y maduro presentaron concentraciones estadísticamente mayores (*Tabla IV.6*).

A diferencia de los otros metales estudiados, el Mn y el Fe presentaron diferencias entre ambos cangrejales, observándose mayores concentraciones en los huevos del cangrejal de la planicie de marea descubierta.

Además, las concentraciones de los metales pesados esenciales fueron mayores a las de los no esenciales.

Tabla IV.6- CONCENTRACIONES MEDIAS ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso seco) Y DESVIACIONES ESTANDARES DE METALES PESADOS EN HUEVOS DE *NEOHELICE GRANULATA* EN LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

Metal	estación	HUEVOS			
		temprano	intermedio	tardío	media
Cd	D	0,40±0,18	0,61±0,16	0,50±0,49	0,51±0,30
	E	0,41±0,12	0,44±0,28	0,71±0,25	0,52±0,25
Cu	D	47,20±8,40	40,65±7,40	53,22±13,78	47,025±10,88
	E	45,50±7,45	46,00±8,77	48,98±14,84	46,83±10,16
Pb	D	0,50±0,74	2,67±2,97	0,71±1,58	1,29±2,10
	E	1,30±1,53	0,77±1,13	0,73±1,64	0,94±1,37
Zn	D	82,56±8,28	82,03±5,323	82,99±6,84	82,53±6,80
	E	80,44±4,29	80,46±6,89	77,04±4,81	79,32±5,31
Fe	D	668,04±186,14 ^a	1174,02±287,08 ^b	1002,10±168,11 ^b	948,05±298,00
	E	292,64±108,95 ^a	571,85±170,09 ^b	548,97±153,73 ^b	471,15±188,61
Mn	D	28,07±3,95 ^a	56,01±14,30 ^b	53,79±14,22 ^b	45,96±17,12
	E	9,72±1,58	14,55±1,61	23,43±13,82	15,90±9,52
Ni	D	2,99±3,19	7,12±3,01	3,22±2,51	4,44±3,34
	E	2,86±3,05	2,74±2,16	3,18±2,27	2,92±2,34
Cr	D	1,21±0,72	1,62±1,00	0,96±0,61	1,26±0,79
	E	0,80±0,22	1,07±0,68	1,53±0,92	1,13±0,70

*D: planicie de marea descubierta, E: espartillar

** Medias en una misma línea con diferente superíndice indica que existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre estadios de desarrollo de los huevos.

*** Las concentraciones medias marcadas en **negrita** presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos cangrejales.

IV.4- Discusión

La importancia del estudio de la bioacumulación de metales pesados en invertebrados acuáticos está sostenida por varios motivos. Por un lado, el estudio de las concentraciones de metales pesados en invertebrados acuáticos puede tener una gran importancia cuando está incluido en los programas de monitoreo, tanto para determinar variaciones de contaminación espaciales como temporales en los sistemas acuáticos. Por otro lado, también debe ser considerado el potencial que poseen algunos metales pesados para ser transferidos a lo largo de las tramas tróficas. Si bien no existe una regla particular para la biomagnificación de metales pesados, cada metal se comporta de una forma particular en los distintos niveles de la cadena, y puede ir aumentando su concentración de un nivel a otro. También poseen una gran importancia para el estudio de los procesos específicos de cada especie particular en cuanto a la entrada, acumulación y detoxificación de cada uno de los metales pesados (Rainbow, 2002).

En este estudio se eligió realizar el análisis de metales trazas en hepatopáncreas porque este órgano se caracteriza por secuestrar metales, y por lo tanto, provee una integración de la exposición a metales a lo largo del tiempo, y se evita el efecto confuso de la muda frecuente si se estudia al organismo completo (Rainbow, 1997).

Los niveles de metales pesados presentes en hepatopáncreas de machos y hembras de la especie *N. granulata* no presentaron diferencias significativas entre ambos sexos, a excepción del Zn. Las concentraciones de este metal fueron mayores en hepatopáncreas de las hembras.

Las concentraciones de metales pesados en hepatopáncreas tampoco presentaron diferencias en cuanto a los valores presentes en ambos cangrejales estudiados. Esto indica que la biodisponibilidad en ambos cangrejales es la misma.

Sin embargo, se observaron diferencias en cuanto a la acumulación temporal de la mayoría de los metales estudiados. Los elementos Cd, Cu, Zn, Cr y Mn presentaron niveles mayores durante la primavera y/o verano. El Ni, en cambio, presentó un comportamiento inverso, ya que se observaron mayores niveles de

bioacumulación durante el otoño, y menores niveles en primavera y verano. El Fe en algunos casos no mostró diferencias estacionales y en otros casos sí, ya que los machos del cangrejal ubicado en el espartillar y las hembras del cangrejal de confluencia mostraron concentraciones menores de este metal durante el invierno y la primavera.

La biodisponibilidad y bioacumulación de metales pesados en la biota acuática está influenciada por dos tipos de factores: factores intrínsecos o biológicos (por ejemplo, talla, edad, sexo) y por factores extrínsecos o físico-químicos (por ejemplo, especiación, salinidad) (Powell y White, 1990; Borgmann, 2000).

Los patrones de bioacumulación de metales pesados en los tejidos de cangrejos marinos han demostrado ser extremadamente variables. Numerosos estudios previos han encontrado que los patrones de bioacumulación en cangrejos dependen de varios factores como especie, ubicación geográfica, dieta, sexo, talla y tipo de tejido (Páez-Osuna *et al.*, 1995; Martín-Díaz *et al.*, 2005). Sin embargo, en otros estudios, estos factores mostraron no ser siempre significativos en la bioacumulación, y, en caso que lo fueran, su efecto sobre la concentración de metales puede ser variable (Guns *et al.*, 1999; Kannan *et al.*, 1995).

Uno de los factores que influyen en los patrones de bioacumulación de metales pesados en tejidos de cangrejos es, como ya se ha mencionado anteriormente, la dieta. En este sentido, se puede mencionar que en esta laguna se observaron diferencias en la alimentación de esta especie de acuerdo al tipo de hábitat. Los cangrejos que habitan cangrejales ubicados en planicies de marea descubierta presentan una alimentación de tipo detritívora, mientras que los individuos que habitan cangrejales ubicados en zonas de espartillar poseen una alimentación mayoritariamente herbívora (Iribarne *et al.*, 1997). Las diferencias en el tipo de alimentación podrían traer aparejado un cambio en la bioacumulación de metales pesados, ya que una forma de entrada de estos elementos a los individuos es a través de los alimentos. Sin embargo, esto no produce diferencias en los niveles de metales presentes en hepatopáncreas entre ambos cangrejales. Esto podría deberse a que la biodisponibilidad de estos metales en ambos cangrejales es la misma, o a que la entrada de metales a través del alimento no es importante en esta especie. En

relación a esto último, se han realizado estudios que comprueban que la entrada de metales en ciertos invertebrados acuáticos es mayor en la forma disuelta que a través de los alimentos (Wang *et al.*, 1996 a, b; Chong y Wang, 2000).

Otro de los factores que influyen en los patrones de bioacumulación de metales pesados en tejidos de cangrejos ya mencionado es la salinidad. Varios trabajos explican la relación negativa entre la entrada/toxicidad de los metales con respecto a la salinidad. Se ha demostrado que a menor salinidad hay una mayor biodisponibilidad de metales pesados, lo cual genera una mayor toxicidad o ingreso en los organismos (Wright, 1995, Beltrame *et al.*, 2008). Esto se debe a que en presencia de aguas salinas hay una mayor proporción de iones Cl⁻ capaces de quelar los iones metálicos y de esta forma reducir su biodisponibilidad. En este trabajo, se observa que la mayor parte de los metales trazas estudiados presentaron una mayor bioacumulación durante los meses de primavera y/o verano, en los meses en donde la salinidad en esta laguna fue mayor (Capítulo I) y por lo tanto, la biodisponibilidad de los metales debería ser menor. Por lo tanto, se puede decir que en este caso, la salinidad no es el factor que influye en las diferencias de bioacumulación observada en esta especie.

El sexo es otro de los factores que pueden condicionar la bioacumulación de metales en los tejidos de cangrejos. En este caso, no se observaron diferencias significativas en la acumulación de los metales pesados estudiados en hepatopáncreas entre ambos sexos, con la excepción del Zn que presentó mayores niveles en las hembras. En estudios similares con otros cangrejos marinos como *Tachypleus tridentatus* tampoco se observaron diferencias entre sexos en cuanto a la acumulación de Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn (Kannan *et al.*, 1995). Sastre *et al.* (1999) tampoco observaron diferencias en la especie *Callinectes spp* en cuanto a la acumulación de Cd, Hg, Pb, aunque si presentó diferencias en la acumulación de Cu.

En la acumulación de metales pesados es muy importante tener en cuenta la talla de los organismos. En los casos en que este factor presenta un efecto significativo sobre la acumulación de metales, el mismo es relativamente constante, y lo que en muchos casos se observa es que los animales más grandes (presumiblemente más viejos) tienen mayores concentraciones de estos elementos,

aunque este efecto no es generalizable para todos los crustáceos. Esto puede indicar acumulación de metales a lo largo del tiempo o diferencias de aportes a través de la dieta entre diferentes clases de tallas. Sin embargo, en este estudio las tallas muestreadas en todas las estaciones presentaron medias muy similares, por lo cual este factor no pudo influenciar en la acumulación.

La variación estacional de la biodisponibilidad de los metales estudiados puede deberse a diferentes motivos. En general, la mayoría de los metales mostraron un aumento en su bioacumulación durante los meses de primavera y verano, en coincidencia con los meses de mayor temperatura ambiental y mayor actividad de estos crustáceos. Así, durante estos meses hay un aumento en la actividad metabólica de estos organismos, ligado al aumento de temperatura, y por lo tanto un mayor requerimiento de oxígeno, que puede generar una mayor difusión de metales disueltos a través de las branquias. Otra de las causas puede estar relacionada con la reproducción. Los meses de primavera y verano son los meses en los cuales esta especie se reproduce (Ituarte *et al.*, 2004), lo que puede traer aparejado un requerimiento diferencial de ciertos metales con respecto al resto del año. Sin embargo, no sólo las concentraciones de los metales esenciales se vieron aumentadas, también lo hicieron las de los no esenciales. Además el período reproductivo también puede estar generando un mayor gasto de energía en los organismos, ocasionando una disminución de la capacidad de detoxificación, aumentando así la bioacumulación de los mismos.

Otra de las causas del aumento de la bioacumulación puede ser la existencia de una biodisponibilidad diferencial de estos metales en el ambiente a lo largo del año, debido tanto a los aportes por actividades antrópicas como a los cambios de condiciones físico-químicas en las áreas próximas a esas fuentes.

Las comparaciones de las concentraciones halladas en este cangrejo con las de otras especies no son relevantes, ya que las concentraciones de un metal específico halladas en una especie determinada pueden tener un significado biológico para esa especie, y otro diferente para otra especie. Así, la concentración de un metal puede ser muy alta para una especie y muy baja para otra, a pesar que ambas especies estén taxonómicamente muy emparentadas: todo depende de los patrones de entrada,

acumulación, detoxificación y efectos tóxicos propios de cada especie (Rainbow, 2002).

En varios estudios realizados con diversas especies de crustáceos decápodos, se pudo observar que éstos pueden regular las concentraciones internas de algunos metales esenciales como el Cu, Zn y Mn en sus tejidos (Rainbow, 2002). Sin embargo, en este estudio, los niveles de metales esenciales (como el Zn, Cu y Mn) variaron a lo largo del tiempo. Esto permite inferir que el ingreso de estos metales en los organismos en determinadas estaciones del año fue de un nivel tal que no les permitió la completa regulación de las concentraciones internas, o que esta especie no tiene la habilidad metabólica intrínseca de regular estos elementos.

La bioacumulación en huevos de los metales pesados Cd, Cu, Pb, Zn, Cr y Ni no presentó diferencias con respecto a los estadios de desarrollo embrionarios ni con respecto a los cangrejales estudiados. En cambio, los elementos Fe y Mn sí presentaron diferencias en su bioacumulación: se observaron mayores concentraciones de ambos en los huevos en estadios intermedio y tardío de desarrollo. Además, también se presentaron mayores niveles de Fe y Mn en los huevos de hembras del cangrejal ubicado en la planicie de marea descubierta con respecto a las hembras del cangrejal ubicado en el espartillar.

La cáscara de los huevos en los crustáceos incluye una membrana externa tricromática y una membrana interna quitinosa (Cheung, 1966). Las membranas de los huevos de algunos crustáceos -como por ejemplo las langostas *Homarus gammarus* y *H. americanus* y del cangrejo araña *Hyas araneus*- demostraron un incremento en su permeabilidad al agua y minerales justo antes de la eclosión de las larvas (Pandian, 1970 a,b; Petersen y Anger, 1997). Esta mayor permeabilidad en la cáscara de los huevos podría ser la causa del aumento en las concentraciones de Fe y Mn durante los desarrollos intermedio y tardío de los embriones. Sin embargo, sólo se observó un aumento en la acumulación de estos dos metales únicamente, lo cual también indicaría que este incremento se debería a un requerimiento de estos elementos esenciales a medida que avanza el desarrollo embrionario.

Eriksson (2000) estudió la acumulación de Mn en huevos de la langosta *Nephrops norvegicus*, los cuales también presentaron un aumento en la concentración

de Mn durante la embriogénesis tardía. Las concentraciones de metales encontradas en huevos del cangrejo *Limulus polyphemus* fueron: Cd 70; Cr 46, Pb 46 y Mn 2210 ng.g⁻¹peso húmedo (Burger *et al.*, 2002). Las concentraciones halladas en *N. granulata* fueron mayores a éstas, lo que indica que están expuestos a una mayor biodisponibilidad o concentraciones.

El conocimiento de la acumulación de metales pesados tanto en los huevos de *N. granulata* como en las partes blandas de esta especie es de gran importancia, no sólo para la propia especie sino también para otras tantas que los usan como alimento (por ejemplo, aves tanto migradoras como residentes permanentes, peces, entre otras). Estas concentraciones de metales presentes en las fuentes de alimento pueden ser críticas para muchas otras especies de esta laguna.

Las concentraciones de metales acumuladas en *N. granulata* pueden usarse como una medida de la biodisponibilidad de metales presentes en este ambiente, específicamente para esta especie. Los biomonitores brindan una medida integrada en el tiempo de las fracciones de metales con un significado ecotoxicológicamente relevante en el ambiente.

El cangrejo cavador *N. granulata* presenta las características requeridas para poder ser utilizado como biomonitor. Esta especie es sedentaria, no presenta grandes desplazamientos, además es fácilmente identificable, abundante, de vida relativamente larga, se recolecta fácilmente a lo largo de todo el año y posee una amplia distribución. Estudios previos indican que son relativamente tolerantes a ciertos metales pesados (Beltrame *et al.*, 2008, Ferrer *et al.*, 2000) y que acumulan metales en sus tejidos (Ferrer, 2001).

En este estudio se demuestra la existencia de variación estacional en la acumulación de metales pesados en el cangrejo cavador *N. granulata*. De esta forma se confirma la necesidad de tomar muestras durante la misma época del año si se quiere llevar a cabo programas de monitoreo de metales pesados biodisponibles en esta laguna. Sin embargo, la toma de muestras del mismo sexo, no parece relevante, a excepción del Zn, ya que se demostró que machos y hembras no presentan bioacumulación diferencial. Si, en cambio, se desea monitorear la biodisponibilidad

del Zn, resulta entonces necesario determinar *a priori* cual será el sexo elegido para realizar tipo de estudio.

IV.5- Conclusión

Finalmente, se puede concluir que la presencia significativa de metales pesados en el cangrejo cavador *N. granulata* está fuertemente asociada al aporte de metales que realizan las actividades humanas que se desarrollan en el área de estudio y que ejercen una fuerte presión sobre este ambiente estuarial. Los resultados obtenidos indican claramente la habilidad de estos decápodos de acumular los metales estudiados.

La bioacumulación en esta especie está afectada por la estacionalidad, mientras que no se ve afectada por el sexo, a excepción del Zn.

Este estudio de acumulación de metales es de suma importancia por ser *N. granulata* una especie clave en este ecosistema. Este capítulo describe un estudio preliminar sobre el uso de esta especie de crustáceo en el biomonitorio temporal de metales en la laguna costera Mar Chiquita, el cual permite comprobar que es un potencial biomonitor, a pesar que necesariamente deben realizarse estudios complementarios que lo habiliten como tal.

Capítulo V

ENSAYOS DE TOXICIDAD EN LA ESPECIE CLAVE

NEOHELICE GRANULATA

DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

Capítulo V.- ENSAYOS DE TOXICIDAD EN LA ESPECIE CLAVE
NEOHELICE GRANULATA DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

V.I- INTRODUCCION

Los análisis químicos por sí solos no proporcionan evidencia de los efectos biológicos que pueden causar los tóxicos sobre los organismos, por lo tanto, no permiten determinar el grado de contaminación que producen sobre los ecosistemas (Chapman *et al.*, 2003).

Una de las formas de detectar y medir los posibles efectos de estas sustancias sobre organismos lo constituyen los ensayos de toxicidad, que son procedimientos en los que se miden las respuestas de los organismos expuestos a una o más sustancias, residuos o factores ambientales aislados o en combinación (APHA-AWWA-WEF, 1998). De manera que el empleo de ensayos de toxicidad, particularmente en los estadios más tempranos de desarrollo, ha sido propuesto como una herramienta apropiada para la valoración de la contaminación (His *et al.*, 1999). Estas pruebas se realizan en condiciones bien definidas, controladas y reproducibles, en el marco de una gran variedad de bioensayos de toxicidad crónica y aguda, principalmente para cuantificar la calidad de las aguas con el objeto de respaldar normas o políticas ambientales.

Aunque los ensayos de toxicidad han mejorado la comprensión acerca de los efectos de los contaminantes, sus efectos son difíciles de extrapolar al ambiente natural porque carecen de “realismo” ecológico (Munkittrick y McCarty, 1995). No obstante, estos ensayos de laboratorio son simples y de bajo costo, valoran el rango de acción de las sustancias químicas y predicen su peligro y riesgo, determinan relaciones causa-efecto en estudios post-impacto y establecen los niveles de dilución de sustancias y efluentes antes de las descarga dentro de las aguas receptoras (Chapman, 1995).

Los programas de monitoreo por sí solos no resultan suficientes para la estimación de los potenciales efectos de los tóxicos sobre la vida acuática (Hansen, 1984). Por lo tanto, para una correcta evaluación del riesgo ambiental es necesario conocer cuantitativamente los cambios biológicos que generan estos tóxicos, para poder establecer así las relaciones dosis-efecto y dosis-respuesta.

Los ensayos de toxicidad generalmente relacionan los efectos observados con las concentraciones externas del contaminante durante la exposición. De acuerdo a Chapman (1995), las exposiciones en medios acuáticos constituyen las situaciones más directas para hacer predicciones debido a que sólo hay una vía de incorporación (agua) y las modificaciones fisicoquímicas del tóxico y las comportamentales del organismo están minimizadas.

Así, las pruebas de toxicidad en laboratorio, cuya metodología se halla explícitamente tratada en las publicaciones de FAO-Ward y Parrish (1982) y APHA-AWWA-WEF (1998), son ampliamente utilizadas para evaluar la toxicidad real y potencial de sustancias químicas y medir los efectos de la contaminación (Hansen, 1984).

Los metales pesados se encuentran entre los contaminantes más perjudiciales para la biota acuática. Aunque algunos como el Cu, Cr, Zn a la vez que son **esenciales** pueden ser tóxicos si las concentraciones en el medio exceden cierto nivel umbral. En tanto, los **no esenciales** son altamente tóxicos aún en concentraciones traza, como por ejemplo el Cd, Pb, Hg (Förstner y Wittmann, 1983).

En cualquier parte del ciclo hidrológico, menos del 1% de los contaminantes está disuelto en el agua y más del 99% está almacenado en los sedimentos. Sin embargo, la fracción disuelta es la más móvil y la más biodisponible (Förstner, 1995).

A partir de los resultados obtenidos en el Capítulo II de este estudio, el metal traza seleccionado para exponer a los organismos de prueba fue el Zn. La elección se basó principalmente en el hecho de que este metal presentó las mayores concentraciones disueltas tanto en agua de columna como en intersticial.

La selección de los organismos de prueba es un aspecto de importancia que determina el éxito de los ensayos de toxicidad en sí mismos y que posibilita una

correcta extrapolación de resultados hacia el ecosistema completo. Los criterios utilizados para realizar la elección fueron (APHA-AWWA-WEF, 1998):

- Alta disponibilidad y abundancia, relacionada con una amplia distribución geográfica y dominancia en el medio.
- Estabilidad genética y uniformidad de las poblaciones usadas en los ensayos.
- Uso de organismos autóctonos y representativos del ecosistema que se evalúa.
- Conocimiento de la localización dentro de la estructura y funcionamiento del ecosistema.
- Conocimiento de sus características biológicas, hábitos nutricionales y fisiología.
- Sencillo mantenimiento y cultivo en condiciones de laboratorio.
- Disponibilidad de los ejemplares a lo largo de todo el año.
- Preferencia por especies de importancia ecológica, comercial o recreacional.

Los crustáceos han sido ampliamente usados en ensayos ecotoxicológicos, tanto los estadios larvales, como los juveniles y adultos, y se ha informado que son particularmente sensibles a ciertos contaminantes, incluyendo los metales pesados (Rodríguez y Amín 1991, Rodríguez *et al.*, 1992, Monserrat *et al.*, 1994; Amín *et al.*, 1998; Rodríguez *et al.*, 1998; López Greco *et al.*, 2001a, b; 2002; entre otros), especialmente los estadios larvales.

La especie *Neohelice granulata* (Brachyura, Grapsoidea, Varunidae) se distribuye ampliamente en el intermareal atlántico sudamericano, desde la bahía de Paranaguá (Brasil) hasta la bahía San Antonio (Argentina) (Spivak, 1997). Su distribución no es continua, sino que generalmente habita en zonas estuariales, incluyendo marismas o cuerpos de salinidad intermedia. En Argentina forma parte de una comunidad conocida como "cangrejal bonaerense" (Boschi 1964; Botto y Irigoyen 1979). En la laguna costera Mar Chiquita se encuentra una población numerosa de esta especie excavadora, asociada tanto a las praderas de *Spartina densiflora* como a las planicies barrosas de inundación (Boschi, 1964; Iribarne *et al.*, 1997) inclusive a cientos de metros de la costa y en zonas con grandes cambios de salinidad (Spivak *et al.*, 1994).

La importancia trófica de *N. granulata* se relaciona principalmente con la transferencia de materia y energía que realiza al alimentarse en el ambiente costero semiterrestre y al incursionar en el ambiente netamente acuático, donde tanto larvas como adultos de cangrejos pueden ser presa de alevinos y adultos de peces respectivamente, cuyos hábitos carcinófagos e importancia pesquera han sido documentados (Menni, 1983; Martinetto, 2001). En cuanto al ciclo reproductivo de esta especie, se conoce que los adultos se aparean durante los meses de primavera y verano, y que las hembras desovan durante fines de primavera, verano y comienzos del otoño (Spivak *et al.*, 1994; Ituarte *et al.*, 2004). El ciclo de vida se caracteriza por una estrategia de exportación: luego de la eclosión de las larvas (zoea 1), y a lo largo de otros 15 a 20 días, se suceden cuatro mudas de estadios larvales (Boschi *et al.*, 1967). Estos estadios se desarrollan en el estuario inferior o en las regiones costeras adyacentes; el último estadio (megalopa) regresa al estuario y muda a cangrejo 1, que constituye el primer estadio juvenil, y se recluta en las poblaciones adultas (Anger *et al.*, 1994; Luppi *et al.*, 2002). Por sucesivas mudas crece hasta alcanzar el tamaño y la condición de adulto al término de unos años. El desarrollo embrionario dura 30-35 días a 18° C, el desarrollo larval dura aproximadamente 22 días a 24° C y los juveniles alcanzan la talla reproductiva al cabo de un año (Gavio *et al.*, 1994; Spivak, 1994). En el ambiente costero se encuentran distintos estadios de juveniles a lo largo del año, debido a las sucesivas mudas (Botto y Irigoyen, 1979). Como especie clave de esta laguna costera, este cangrejo juega un rol principal en la transferencia de contaminantes a los niveles tróficos superiores.

Sobre esta especie, tanto en embriones, larvas, juveniles y adultos, se han realizado varios ensayos con pesticidas y metales pesados en otros ambientes estuariales de nuestro país (Bigi *et al.*, 1996; Zapata *et al.*, 2001; López Greco *et al.*, 2001a, b; Ferrer, 2001; Lavolpe *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2005; Ferrer *et al.*, 2006, Beltrame *et al.*, 2008; entre otros).

De este modo, se seleccionó a la especie de cangrejo *N. granulata* para realizar los ensayos de toxicidad, por ser un organismo bentónico que vive íntimamente asociado a los sedimentos, y por su gran abundancia e importancia ecológica como

estructurador del ecosistema costero, ya que forma cangrejales de varios kilómetros de extensión.

El objetivo de este capítulo fue:

Evaluar los efectos tóxicos subletales del Zn sobre embriones y juveniles del cangrejo cavador *N. granulata*, e inferir posibles consecuencias sobre las poblaciones naturales.

Los objetivos específicos de este capítulo fueron:

- Evaluar los efectos de toxicidad subletales de Zn en embriones de *Neohelice granulata* de la laguna costera Mar Chiquita.
- Evaluar los efectos de toxicidad del Zn sobre la muda de juveniles de *N. granulata*.

Este capítulo se realiza como un aporte a la evaluación integral del estado del ecosistema. Los resultados aquí presentados constituyen los primeros aportes al conocimiento de los efectos subletales de Zn en juveniles de *N. granulata*, expuestos a condiciones ambientales similares a las presentes en la laguna costera Mar Chiquita.

V.2- ENSAYO DE TOXICIDAD 1

EFFECTOS DEL ZN SOBRE LA MUDA Y EL PESO CORPORAL DEL CANGREJO CAVADOR *NEOHELICE GRANULATA* DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA

V.2.1- Introducción

Los estuarios y las zonas costeras, junto con sus correspondientes humedales, reciben grandes aportes de materiales -incluyendo contaminantes- desde fuentes puntuales y difusas provenientes de descargas de residuos agrícolas, industriales o urbanos (Marcovecchio, 2000). Los ambientes acuáticos están siendo cada vez más contaminados por compuestos orgánicos e inorgánicos. Muchos de estos contaminantes, como por ejemplo los metales pesados, pueden ser acumulados en los tejidos de los crustáceos a concentraciones mucho mayores a las encontradas en el agua de columna o en los sedimentos (Rainbow, 2007) y tanto los metales esenciales como los no esenciales pueden volverse tóxicos a estas elevadas concentraciones. Estudios recientes se han encargado de evaluar el potencial de ciertos contaminantes para producir interrupciones endócrinas en procesos fisiológicos específicos de crustáceos. Varios estudios de laboratorio con crustáceos demostraron que algunos metales pesados y compuestos organometálicos afectan negativamente a procesos controlados hormonalmente, como por ejemplo la muda, reproducción y respuestas pigmentarias (Rodríguez *et al.*, 2007; Rodríguez Moreno *et al.*, 2003, López Greco *et al.*, 2000; Reddy *et al.*, 1997, Fingerman *et al.*, 1998).

El crecimiento y desarrollo en crustáceos se lleva a cabo a través de la ecdisis, es decir el desprendimiento periódico del exoesqueleto rígido, la cual forma parte del ciclo de muda. Luego de cada ecdisis sucede una entrada de agua post-muda, y, como consecuencia, un rápido aumento de la talla corporal durante el corto período en el que el caparazón permanece blando (Hartnoll, 2001). Para los crustáceos, la muda es un proceso fisiológico extremadamente importante, debido a que éste no

sólo les permite crecer y desarrollarse a pesar de portar un exoesqueleto rígido, sino que también permite la metamorfosis durante los estadios tempranos del ciclo de vida y la reproducción durante el estado adulto.

La muda en los crustáceos es regulada por un sistema multihormonal, aunque está bajo un control inmediato de hormonas esteroideas llamadas ecdisteroides (Chang *et al.*, 1993) y asociada a factores ambientales, incluyendo la luz y la temperatura. Este proceso está íntimamente relacionado con la reproducción, el crecimiento y el desarrollo y, por lo tanto, es un interesante punto para evaluar efectos de toxicidad endócrina específica en crustáceos (Verslycke *et al.*, 2006).

El cambio en el peso corporal es otro punto sensible comúnmente utilizado en las evaluaciones de toxicidad (Odendaal y Reinecke, 1999). Este es un efecto subletal que puede tener un impacto sobre las poblaciones a largo plazo.

Teniendo en cuenta la gran importancia de la muda y del peso corporal en el ciclo de vida de los crustáceos, es necesario el desarrollo de estudios profundos a partir de ensayos de toxicidad, los cuales pueden ser utilizados para identificar los efectos de contaminantes capaces de interferir con estos procesos en crustáceos.

El objetivo de este capítulo fue evaluar los efectos del Zn sobre la muda de juveniles de *N. granulata*, una de las especies claves en esta laguna costera.

Los objetivos específicos fueron:

- Evaluar el efecto del Zn sobre la intermuda (período comprendido entre dos mudas sucesivas) de juveniles de *N. granulata*.
- Evaluar el efecto del Zn sobre el cambio en la talla corporal entre dos mudas sucesivas en juveniles de *N. granulata*.
- Evaluar el efecto del Zn sobre el cambio del peso corporal entre dos mudas sucesivas en juveniles de *N. granulata*.
- Evaluar la supervivencia de juveniles de *N. granulata* en presencia de distintas concentraciones de Zn.

V.2.2- Materiales y métodos

- Obtención y aclimatación de los animales

Los individuos utilizados en los bioensayos fueron recolectados a mano en la laguna costera Mar Chiquita ($37^{\circ} 32' - 37^{\circ} 45'S$, y $57^{\circ} 19' - 57^{\circ} 26 O$), en planicies cubiertas por *Spartina densiflora*. Se recolectaron cangrejos juveniles con una talla entre los 6,5 - 10 mm aproximadamente de ancho máximo de caparazón (AC) (medido entre el tercer par de espinas dorsales), y se descartaron aquellos individuos que presentaron pérdidas de miembros u otras anomalías. Los juveniles se distinguen de los adultos por su menor tamaño. La talla mínima de madurez funcional, definida como el tamaño mínimo a partir del cual los individuos se hallan maduros sexualmente, fue determinada en 18,5 mm de ancho de caparazón para las hembras y en 12 mm de ancho de caparazón para los machos de *C. granulata* (López *et al.*, 1997; López y Rodríguez, 1999). Los juveniles fueron trasladados al laboratorio en recipientes de plástico con agua de la laguna.

En el laboratorio, los individuos fueron colocados en acuarios de vidrio con tapa, cubiertos con agua de la laguna, dentro de una cámara de cultivo para su aclimatación bajo las mismas condiciones ambientales a utilizarse durante los ensayos de toxicidad.

El período de aclimatación de los ejemplares fue de dos semanas, y durante el mismo fueron alimentados *ad libitum* dos veces por semana con alimento balanceado molido para conejos.

- Preparación del agua de dilución

En los ensayos de toxicidad se utilizó como agua de dilución agua natural obtenida de la misma zona de la laguna donde se recolectaron los cangrejos. En el laboratorio, el agua fue almacenada en bidones plásticos para permitir tanto la decantación del material particulado en suspensión como su envejecimiento. Posteriormente, el agua fue pasada por la siguiente serie de filtros de tamaño

decreciente de poro: filtración por algodón y por papel de filtro (en ambos casos por gravedad) y filtración por sucesivas membranas hasta la de 0,45 μm de tamaño de poro (en estos casos por vacío).

El agua fue guardada en bidones de plástico y se le agregó carbón activado en polvo (2g por litro de agua) para remover trazas de metales pesados y compuestos orgánicos disueltos (Kremling, 1999, Marsh y Rodríguez-Reynoso, 2006), se agitó y se dejó reposar durante 24 hs. La misma volvió a ser filtrada con filtro de membrana Millipore HA de 0,45 μm de tamaño de poro. Una vez preparada, el agua fue almacenada en un lugar fresco, en botellones de vidrio oscuros de 5 L, tapados y sellados con Parafilm® para evitar su evaporación.

- Preparación de soluciones stock y de trabajo

Antes de cada ensayo de toxicidad la salinidad fue ajustada mediante el agregado de agua destilada o agua hipersalina según la demanda. Este parámetro se midió utilizando una sonda multisensor Horiba U-10. El agua hipersalina se obtuvo a partir de agua de mar evaporada hasta reducir su volumen inicial a la cuarta parte. El agua fue oxigenada durante las 24 hs anteriores a ser utilizada para los ensayos.

Las soluciones stock de metales se prepararon empleando sales de calidad analítica y agua destilada. Las sales utilizadas fueron Cl_2Zn obtenida de Biopack® (Argentina). La concentración nominal de las soluciones stock y de trabajo se expresan en relación con el catión de cada metal (M^{++}).

Las soluciones stock se prepararon a una concentración de 1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con el fin de lograr una concentración varios órdenes de magnitud mayor que las soluciones de trabajo y minimizar los volúmenes a utilizar, y consecuentemente la introducción de errores aleatorios y/o sistemáticos.

A partir de éstas se prepararon las soluciones de trabajo de menor concentración, en tanto que las de mayor concentración se prepararon directamente utilizando el agua de dilución y la sal correspondiente.

Todo el material usado en la preparación de las soluciones stock y de trabajo fue acondicionado según los protocolos propuestos por APHA-AWWA-WEF (1998).

Se obtuvieron muestras del agua de dilución para la determinación de metales pesados disueltos por espectrofotometría de absorción atómica, siguiendo el método descrito por Botté *et al.* (2008) (ver descripción Capítulo II) para la determinación de la concentración basal del agua utilizada.

- Protocolo para los ensayos de toxicidad

En todos los casos la exposición a contaminantes se efectuó siguiendo las recomendaciones de las organizaciones especializadas (APHA-AWWA-WEF, 1998). Se realizaron ensayos de tipo semiestático, con renovación periódica del medio. Esto permite que las concentraciones de exposición permanezcan constantes, evita la acumulación de productos de excreción y asegura la saturación de oxígeno en el agua de tratamiento. La duración de los ensayos fue de 6 meses, las observaciones se realizaron cada 24 horas y la renovación del medio cada 72 horas. En todos los casos se utilizó un control de agua, utilizando sólo el agua de dilución.

Para llevar a cabo los ensayos de toxicidad se utilizaron acuarios de vidrios cerrados individuales de 500 ml de capacidad, provistos con un volumen de solución de 300 ml y con aireación constante.

Los ejemplares utilizados fueron aquellos que se encontraban en el estadio de intermuda, identificable macroscópicamente por una mayor dureza del caparazón y la coloración oscura, en relación con los estadios de pre y postmuda. Los mismos poseían óptimas condiciones y no presentaban pérdidas de miembros u otras anomalías. A estos ejemplares se les midió el AC con un calibre digital de 0,1 mm de precisión, empleando sólo aquellos con un AC entre los 6,5 - 10mm, y posteriormente fueron colocados al azar en cada tratamiento. Durante los ensayos de toxicidad los individuos fueron alimentados cada 72 hs *ad libitum* con pellets de comida para conejo. Luego de cada alimentación, el agua fue renovada totalmente. En todos los ensayos se realizó el recuento diario de los individuos y los organismos muertos fueron removidos. El criterio de mortalidad adoptado fue la inmovilidad total luego de un pequeño estímulo táctil y laxitud de apéndices.

Las condiciones ambientales utilizadas en los ensayos fueron: temperatura ambiente de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 7 - 8,2 upH, salinidad 20 ± 1 ups y fotoperíodo de 12 hs luz : 12 hs oscuridad (luz fluorescente). Durante los ensayos se midió la salinidad, temperatura, pH, y oxígeno disuelto. La aceptabilidad de cada ensayo estuvo dada por el porcentaje de mortalidad del control, el cual no debió superar el 10%.

Los bioensayos de toxicidad se llevaron a cabo siguiendo los procedimientos propuestos por FAO (Ward y Parrish, 1982, Reish y Oshida, 1987) y APHA-AWWA-WEF, 1998).

Para evaluar los efectos de distintas concentraciones de Zn los tratamientos realizados fueron: 0 (control) - 0,5 - 1 mg $\text{Zn}^{+2}.\text{L}^{-1}$. Cada individuo fue distribuido al azar entre los diferentes tratamientos ensayados. Las concentraciones seleccionadas se basaron en estudios previos de toxicidad aguda realizados sobre juveniles de esta misma especie (Beltrame *et al.*, 2008) y concentraciones observadas en este ambiente (Capítulo II). El número inicial de individuos para cada tratamiento fue 35 para los tratamientos expuestos al metal y 25 para el grupo control.



Figura V.I: DISPOSICIÓN DE LOS INDIVIDUOS EN LOS ACUARIOS INDIVIDUALES DONDE SE LLEVARON A CABO LOS BIOENSAYOS

- Criterios toxicológicos: incremento de talla, peso corporal húmedo y muda

Los acuarios se examinaron diariamente con el fin de observar mudas recientes y registrar la fecha, y chequear si ocurrió la muerte de algún individuo. Los criterios toxicológicos evaluados fueron el tiempo (días) transcurrido hasta el día de la muda (período de intermuda: PIM), y el peso húmedo corporal y los cambios de talla entre cada PIM. Las medidas de los cambios de talla (distancia máxima entre las dos espinas laterales más prominentes) se realizaron al comienzo del bioensayo y dos días después de haberse producido la muda con el fin de no estresar a los individuos durante ese proceso crítico. La toma de medidas se realizó con un calibre digital con una precisión de 0,1mm. Al mismo tiempo se midió el peso corporal, para lo cual los individuos se secaron con un papel absorbente y se pesaron en una balanza de calidad analítica con una precisión de 0,0001g.

Para calcular el cambio de talla de los juveniles entre cada muda se empleó la siguiente fórmula:

$$(Ct_2 - Ct_1) * 100 * Ct_1^{-1}$$

donde Ct_1 y Ct_2 son las tallas de los caparazones al comienzo y luego de efectuarse la muda respectivamente.

Para calcular el cambio en el peso húmedo corporal de cada individuo entre cada muda se empleó la siguiente fórmula:

$$(Cp_2 - Cp_1) * 100 * Cp_1^{-1}$$

donde Cp_1 y Cp_2 son los pesos corporales al comienzo y luego de efectuarse la muda respectivamente.

- Análisis estadístico

Los datos obtenidos sobre incrementos de talla, cambios en el peso corporal y PIM registrados en los ensayos realizados fueron analizados estadísticamente aplicando el test de análisis de varianzas de un factor (ANOVA). Previamente se analizó la normalidad y homocedasticidad de los datos. Se realizaron comparaciones

múltiples de medias usando el método Holm-Sidak. El nivel de significancia fue = 0,05. Para estos análisis se utilizó el programa Sigmastat Software 3.0®.

V.2.3- Resultados

V.2.3.1- Efecto del Zn sobre la supervivencia de juveniles de *N. granulata*

En la *Tabla V.1* se indican los porcentajes de supervivencia y la talla inicial para cada tratamiento. Luego de seis meses de ensayo, la supervivencia de los juveniles entre cada tratamiento varió desde 52% (control) y 46% (0,5 mg Zn⁺².L⁻¹) a 53% (1 mg Zn⁺².L⁻¹). No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos.

TABLA V.1: NÚMERO INICIAL DE INDIVIDUOS, TALLA DE CAPARAZÓN INICIAL MEDIA Y PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA AL FINAL DEL ESTUDIO PARA CADA TRATAMIENTO.

	Control	0.5 mg Zn ⁺² .L ⁻¹	1 mg Zn ⁺² .L ⁻¹
Número inicial de ind.	25	35	35
Ct medio inicial (mm)	8,02 ± 0,91	7,99 ± 1,26	8,04 ± 1,15
Nº de supervivientes (%)	52	46	53

Se indican medias ± desviación estándar
Ct: talla máxima de caparazón.

V.2.3.2- Efecto del Zn sobre el período de intermuda (PIM) en juveniles de *N. granulata*

El efecto a largo plazo del Zn sobre el PIM se puede observar en la *Figura V.2*. En los controles, el primer PIM (incompleto ya que el ensayo no comenzó inmediatamente luego de una muda) tuvo una duración de 42,429 ± 18,324 días en promedio, mientras que el segundo PIM tuvo una duración de 55,889 ± 18,415 días. Sólo un individuo pudo alcanzar una tercera muda con un PIM de 38 días. En el tratamiento con la menor concentración de Zinc ensayada (0,5 mg Zn⁺².L⁻¹), el primer PIM tuvo una duración de 49,893 ± 27,300 días, mientras que el segundo PIM

tomó $70,364 \pm 10,122$ días. Sólo un individuo llevó a cabo una tercera muda con un PIM de 64 días. En el tratamiento con la mayor concentración de Zn ensayada ($1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$) el tiempo en lograr la primer muda fue significativamente mayor con respecto a los otros tratamientos (control y $0,5 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$). La duración del primer PIM fue de $62,538 \pm 28,388$ días, mientras que el segundo PIM tuvo una duración de $66,250 \pm 15,872$ días. Sólo un individuo logró una tercera muda con un PIM de 53 días.

A pesar de que la duración del segundo PIM pareciera ser más prolongada en los tratamientos en presencia de Zn ($0,5$ y $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$) con respecto al control, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Sólo el primer PIM fue significativamente mayor en los juveniles de *N. granulata* expuestos a $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$. El tercer PIM también pareciera ser mayor en los tratamientos en presencia de Zn, aunque no fue posible realizar un análisis estadístico.

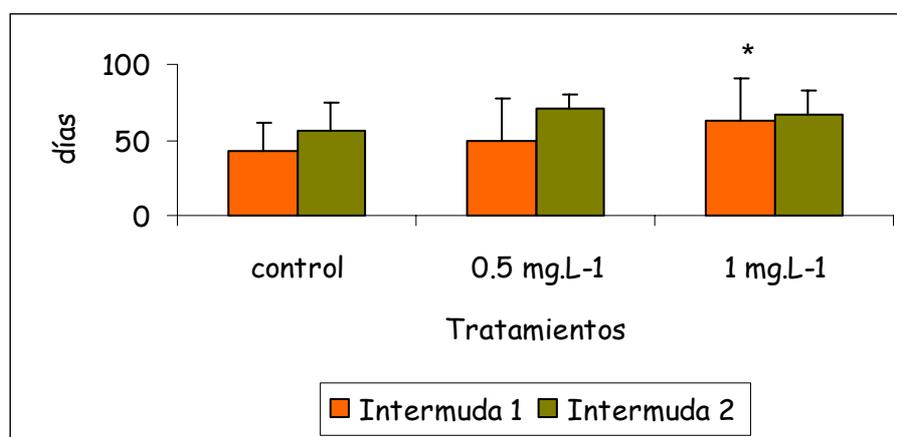


FIGURA V.2: EFECTO DEL Zn SOBRE EL PRIMER Y SEGUNDO PERÍODO DE INTERMUDA (PIM) REGISTRADOS DURANTE LOS SEIS MESES DE DURACIÓN DEL BIOENSAYO EN JUVENILES DE *N. GRANULATA* DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA.

* diferencias significativas con respecto al control (método de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

V.2.3.3- Efecto del Zn en el cambio de talla corporal en juveniles de *N. granulata*

El efecto de la exposición a Zn a lo largo de seis meses en juveniles de *N. granulata* sobre los cambios de talla corporal de los individuos se puede observar en la **Figura V.3**. Los primeros cambios de talla luego de la primera muda fueron de $7,740 \pm 4,274\%$, $9,090 \pm 6,519\%$ y $8,023 \pm 5,168\%$ para el control, $0,5 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$ y $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. El segundo cambio de talla registrado para cada tratamiento fue de $4,685 \pm 4,068$, $1,875 \pm 5,323$ y $0,771 \pm 4,269$ para el control, $0,5 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$ y $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$ respectivamente. En ningún caso se observaron diferencias significativas en los cambios de talla luego de cada muda entre los tratamientos expuestos a Zn y los controles. Sin embargo, los resultados muestran una reducción en el segundo cambio de talla registrado a medida que la concentración de Zn aumenta.

Merece destacarse una reducción de la talla en varios individuos en presencia de Zn luego de producirse la muda. Los porcentajes de individuos en los que se registró esta reducción en la talla durante el primer y segundo cambio registrado fueron: 0 % para el control, 0 y 33,3% para el tratamiento de $0,5 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$ y 3,85 y 37,5% para el tratamiento de $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. Este efecto solo se pudo observar en los tratamientos en presencia de Zn.

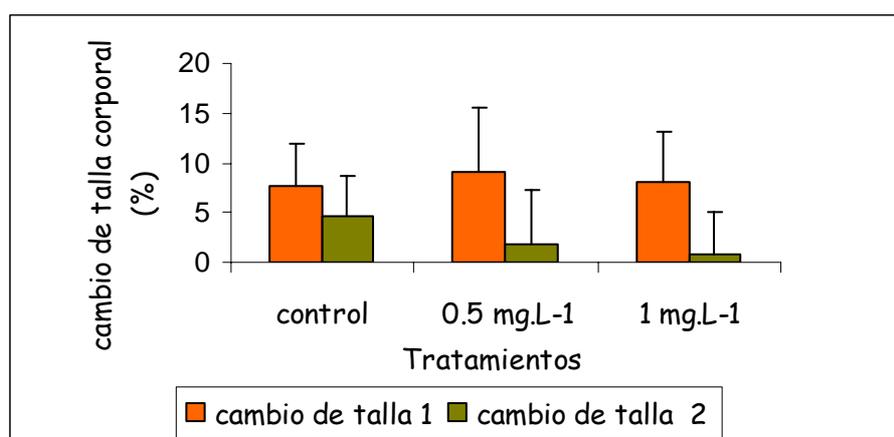


FIGURA V.3: EFECTO DEL Zn SOBRE EL PRIMERO Y SEGUNDO CAMBIO DE TALLA CORPORAL REGISTRADOS DURANTE LOS SEIS MESES DE DURACIÓN DEL BIOENSAYO EN JUVENILES DE *N. GRANULATA* DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA.

V.2.3.4- - Efecto del Zn sobre el peso corporal húmedo de juveniles de *N. granulata*

Todos los individuos fueron pesados al comienzo del ensayo y luego de cada muda. La *Figura V.4* muestra los efectos de la exposición a Zn en el peso húmedo de los juveniles de *N. granulata* expuestos. Una significativa reducción del cambio del peso húmedo corporal se registró en el tratamiento con la mayor concentración de Zn ($1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$) con respecto a los otros 2 tratamientos (control y $0,5 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$). El primer cambio en el peso húmedo de los organismos del control fue de $32,809 \pm 19,716 \%$, mientras que en el tratamiento con la menor concentración de Zn fue de $32,986 \pm 22,388 \%$. El primer cambio de peso húmedo en el tratamiento de $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$ fue de $16,105 \pm 16,921 \%$. Este resultado fue significativamente menor a los registrados para los otros dos tratamientos. Este cambio incluye un menor incremento en el peso húmedo corporal en el período comprendido entre dos mudas y en algunos casos una reducción en el peso.

El segundo cambio del peso húmedo corporal en los organismos del tratamiento control fue de $0,336 \pm 7,004 \%$, mientras que en el tratamiento de $0,5 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$ fue de $2,734 \pm 9,894 \%$, y de $-5,186 \pm 6,458 \%$ en el tratamiento de $1 \text{ mg Zn}^{+2} \cdot \text{L}^{-1}$. Estos cambios registrados no fueron estadísticamente diferentes. Sin embargo, se detectó una disminución en el cambio del peso húmedo corporal en el tratamiento con la mayor concentración de Zn ensayada. Este cambio fue negativo, lo que significa una disminución del peso húmedo corporal de los individuos a lo largo de las mudas.

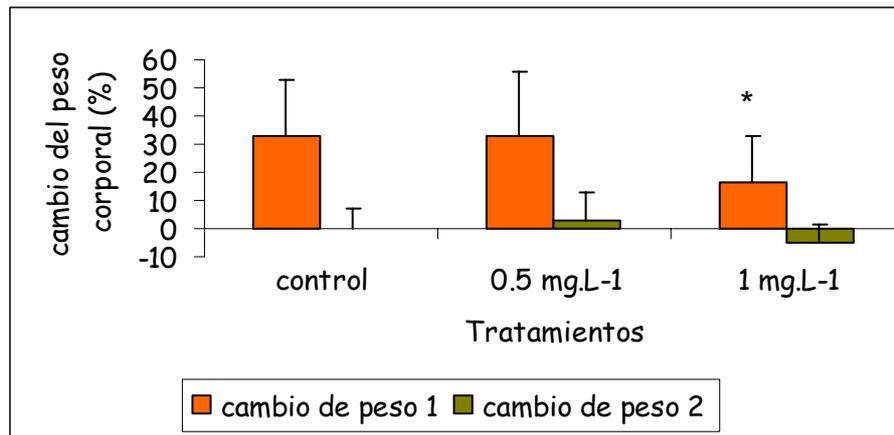


FIGURA V.4: EFECTO DEL Zn SOBRE EL PRIMER Y SEGUNDO CAMBIO DE PESO CORPORAL HÚMEDO REGISTRADOS DURANTE LOS SEIS MESES DE DURACIÓN DEL BIOENSAYO EN JUVENILES DE *N. GRANULATA* DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA.

* diferencias significativas con respecto al control (método de Holm-Sidak, $p < 0,05$).

T: desviación estándar

V.2.4- Discusión

Los procesos de crecimiento y muda en *N. granulata* han sido estudiados a partir de estudios experimentales (López y Rodríguez, 1998; Luppi *et al.*, 2002). Sin embargo, su disrupción por químicos a través de los mecanismos regulados por hormonas específicas hasta el presente no ha sido profundamente investigado. Además, todavía no se han llevado a cabo estudios sobre el efecto del Zn sobre la muda de esta especie, siendo estos los primeros en realizarse.

En este estudio, se evaluaron los potenciales efectos del Zn sobre la muda y el crecimiento de cangrejos de la especie *N. granulata* a partir de la exposición de individuos juveniles a concentraciones subletales de Zn (0, 0,5, y 1 mg Zn⁺².L⁻¹) durante el transcurso de seis meses. Los parámetros registrados en cada uno de los individuos fueron: la supervivencia, la duración del período de intermuda (PIM), los cambios en la talla y en el peso húmedo corporal entre cada muda. Se observó que, a las concentraciones ensayadas, el Zn no afecta significativamente los cambios de la talla corporal. Sin embargo, se observó un llamativo descenso de la talla en presencia de Zn en varios casos.

La mayoría de los procesos fisiológicos en crustáceos están, en su mayor parte, coordinados por hormonas. Luego de la exposición a factores de stress ambiental, es esperable que ocurran cambios en los niveles hormonales (Fingerman, 1997). El proceso de muda es crucial para el normal crecimiento, desarrollo y reproducción de los crustáceos. Verslycke *et al.* (2006) demostraron que este proceso puede ser químicamente inducido a sufrir disrupciones endócrinas. La muda es regulada por un sistema multihormonal, pero está bajo un inmediato control de hormonas esteroideas llamadas ecdisteroides (Chang *et al.*, 1993) y también asociada con factores ambientales, incluyendo la luz y la temperatura. La hormona de la muda en los crustáceos es la 20-hidroxiecdisteroide. La ecdisona es el precursor de esta hormona, y es sintetizada y secretada por el órgano Y, cuya actividad es mantenida en reposo durante el período de intermuda por la hormona de la inhibición de la muda (MIH) secretada por el complejo glandular órgano X. Cuando el animal entra al período de intermuda, la inhibición de la actividad del órgano Y

por la MIH deja de suceder y se intensifica la ecdisteroidogénesis en el órgano Y. De esta forma, los niveles de ecdisteroides en la hemolinfa aumentan y se activa el proceso de muda (Chang, 1995, Fingerman *et al.*, 1998). Estudios previos realizados sobre crustáceos han demostrado que compuestos organometálicos y metales pesados pueden afectar negativamente procesos controlados hormonalmente, como la muda, la reproducción, los niveles de glucosa y las respuestas pigmentarias (Fingerman *et al.*, 1996, 1998).

En presencia de una concentración de Zn^{+2} de 1 mg.L^{-1} , se produce un retraso significativo en la duración del período de intermuda en *N. granulata*. Los PIM en los tratamientos control y en presencia de $0,5 \text{ mg Zn}^{+2}.\text{L}^{-1}$ fueron más cortos que los del tratamiento a una exposición de 1 mg.L^{-1} , presumiblemente debido al impacto del tóxico sobre este proceso hormonal. Algunos estudios previos realizados sobre crustáceos decápodos muestran diferentes efectos de la exposición a metales pesados sobre el crecimiento y la muda. Kogan *et al.* (2000) observaron que el Cd no produjo efectos sobre el crecimiento de hembras juveniles a las concentraciones ensayadas en *N. granulata*. Rodríguez Moreno *et al.* (2003) registraron la inhibición de la muda por Cd en adultos de *N. granulata*. Estos resultados sugieren que el Cd podría impedir el aumento normal de los niveles de ecdisteroides necesarios para el proceso de muda. López Greco *et al.* (2002) informaron que el Cd y el Cu producen efectos significativos sobre el tiempo necesario para alcanzar la muda en *N. granulata*, en comparación con el control, pero los efectos de ambos metales fueron diferentes. El Cu produjo un adelanto de la muda, mientras que el Cd produjo un retardo. Estos resultados coinciden con los efectos producidos por otros contaminantes como el metopreno (insecticida imitador de la hormona juvenil) sobre la muda en *Neomysis integer* (Crustacea, Mysidacea) en el estudio realizado por Ghekiere *et al.* (2006).

El peso corporal en los juveniles de cangrejos del grupo control aumentó a lo largo de los seis meses de estudio. Luego de suceder la primera muda, en los individuos del grupo control y en los del tratamiento expuesto a $0,5 \text{ mg Zn}^{+2}.\text{L}^{-1}$ el peso corporal aumentó con respecto al peso inicial. En el grupo de individuos expuestos a la mayor concentración de $1 \text{ mg Zn}^{+2}.\text{L}^{-1}$ el cambio en el peso corporal fue menor al de los otros dos tratamientos, sugiriendo que esta concentración de

Zn⁺² genera un efecto negativo sobre el peso corporal de *N. granulata*. A pesar de que no se registraron diferencias significativas en el segundo cambio del peso corporal, los cambios en el peso corporal en el grupo expuesto a 1 mg Zn⁺².L⁻¹ fueron menores a los registrados para aquellos individuos del grupo control y los expuestos a 0,5 mg Zn⁺².L⁻¹. La conocida habilidad de *N. granulata* para resistir altas concentraciones de este metal (ej. CL₅₀96 h 50mg/L⁻¹ en la población del estuario de Bahía Blanca de acuerdo a Ferrer *et al.*, 2006; y, CL₅₀96 h 11,41 mg/L⁻¹ en la población de la laguna costera de Mar Chiquita de acuerdo a Beltrame *et al.*, 2008), pueden dar una explicación al hecho de que los cangrejos expuestos a 0,5 mg Zn⁺².L⁻¹ no presenten un notable cambio en el peso corporal como se observó en aquellos expuestos a 1 mg Zn⁺².L⁻¹.

Como se ha observado en estudios realizados por otros autores, los metales pesados pueden inhibir la quimiorrecepción en animales acuáticos (Santos *et al.*, 2000). De este modo, los cangrejos podrían llegar a sufrir una significativa reducción en la detección del alimento, lo cual finalmente puede producir una disminución en el peso corporal. Además, también fue estudiado el efecto de los metales sobre el sistema nervioso de los crustáceos; estos efectos pueden producir cierta dificultad en la captura de las presas y en su manipulación, así como de la actividad locomotora (Bryan *et al.*, 1995). Pestana *et al.* (2007) observaron que un aumento en las concentraciones de Zn y Cd a niveles subletales produjeron una reducción en la tasa de alimentación de *Atyaephyra desmarestii* (Decapoda) y *Echinogammarus meridionalis* (Amphipoda). Este tipo de respuesta tiene potenciales repercusiones en otros aspectos del ciclo de vida como puede ser el crecimiento, la reproducción y en último término, la supervivencia de los organismos (Maltby, 1999).

El menor cambio en el peso corporal registrado en los organismos expuestos a la mayor concentración de Zn, también pudo haber ocurrido debido a la necesidad que tienen los organismos expuestos a contaminantes de usar mayor energía para resistir la contaminación en procesos de detoxificación, dejando, por lo tanto, menor energía para el crecimiento. Barata *et al.* (2004) sugirieron que muchos contaminantes, especialmente los metales pesados, son capaces de inhibir la entrada de alimentos en pequeños crustáceos, como cladóceros y copépodos. Estos

contaminantes, por lo tanto, pueden reducir la tasa de crecimiento a partir de una disminución en la adquisición de energía y/o por un aumento en la demanda de energía asociada al stress generado por la presencia del contaminante.

El hepatopáncreas es un órgano vital y relevante en crustáceos decápodos, ya que combina varias de las funciones del hígado, páncreas, intestino y otros órganos en los vertebrados. Las funciones específicas del hepatopáncreas son importantes para la salud, crecimiento y supervivencia de los decápodos, y en muchas ocasiones es utilizado como un órgano monitor para evaluar la salud y el buen estado de los organismos. Su rol principal es la síntesis y secreción de enzimas digestivas, la digestión final de los alimentos y la subsecuente entrada de nutrientes (Caceci *et al.*, 1988). Ferrer *et al.*, (2001) observó que varios metales pesados, incluyendo el Zinc, son acumulados en el hepatopáncreas de *N. granulata*. Si una alta concentración de metales se acumula en este órgano vital, se podrían llegar a producir impactos negativos sobre éste y, consecuentemente, serios efectos en el peso y crecimiento de los individuos.

Los resultados de este estudio son similares a los observados por Santos *et al.* (2000) quienes observaron que una exposición subletal crónica a concentraciones de Zn y Cu, en forma individual o conjunta, pueden reducir significativamente la longitud total y el peso corporal del camarón *Farfantepenaeus paulensis*.

Desde un punto de vista ecotoxicológico, si *N. granulata* presenta un aumento en la duración del período de intermuda y/o un menor incremento en el peso corporal en presencia de Zn, esto podría traer acarreado serios problemas en cuanto al logro de la talla de madurez sexual y también podrían estar más expuestos a ciertas enfermedades, parásitos y predadores. Además, teniendo en cuenta que *N. granulata* es una especie clave en esta laguna costera, posibles disfunciones que sucedan en esta especie podrían traer aparejado efectos sobre especies de otros niveles tróficos dentro de este sistema, o sobre especies indirectamente relacionadas. Finalmente, y teniendo en cuenta los valores extremadamente altos de Zn presentes en este ambiente (Beltrame *et al.*, 2008), el *status* de salud poblacional de cangrejos de la laguna costera Mar Chiquita debe ser monitoreada cuidadosamente, con el fin de prevenir disrupciones ecológicas críticas dentro de este ambiente.

V.3- ENSAYO DE TOXICIDAD 2

TOXICIDAD DEL ZN EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO DEL CANGREJO CAVADOR *NEOHELICE GRANULATA* DE LA LAGUNA COSTERA MAR CHIQUITA (ARGENTINA)

V.3.1- Introducción

El ciclo de vida de los crustáceos decápodos superiores incluye un estado embrionario, frecuentemente incubado en los pleópodos de las hembras, un número variable de estadios larvares libres pelágicos, y una postlarva, la cual finalmente muda a un pequeño individuo inmaduro. Las larvas de las especies decápodos que habitan en ambientes estuariales pueden ser retenidas en el estuario, o ser exportadas hacia las aguas costeras u oceánicas adyacentes y, más tarde, son reclutadas nuevamente hacia la población adulta (Strathmann, 1982). Por lo tanto, los embriones están siempre expuestos a las mismas condiciones ambientales de las hembras ovígeras parentales, las cuales viven bajo una combinación de factores ambientales que pueden afectar su desarrollo.

Distintos factores pueden afectar la oogénesis, embriogénesis o la calidad larval, como por ejemplo: la condición nutricional de las hembras (Coman, 2007), la temperatura (Smith *et al.*, 2003), la toxicidad (Martín-Díaz *et al.*, 2004) y la salinidad (Bas y Spivak, 2000). En ambientes heterogéneos como los estuarios, estos factores pueden contribuir a la variabilidad natural de las características de huevos y larvas. La toxicidad puede ser uno de los factores claves en afectar el desarrollo embrionario de especies de cangrejos estuariales. Además, larvas de la misma especie eclosionadas en diferentes estuarios pueden desarrollarse bajo diferentes condiciones ambientales. De este modo, tanto las diferencias intra como interpoblacionales en la condición embrionaria o larval pueden deberse a la heterogeneidad de las condiciones ambientales en los estuarios.

Los estuarios y las regiones costeras, así como sus correspondientes humedales, reciben aportes de materiales, incluyendo contaminantes, tanto de fuentes puntuales como de no puntuales. Estos materiales pueden provenir de contaminación urbana, agroganadera e industrial, y ser transferidos hacia el mar (Wilson y Halcrow, 1985). Dentro de estos contaminantes, los metales pesados han demostrado ser uno de los más abundantes y tóxicos.

Varios metales traza juegan roles metabólicos esenciales, además varios de ellos pueden producir serios efectos ecotoxicológicos. El Zn es un metal esencial, el cual es encontrado en las células de los organismos como constituyente de las proteínas (Wright y Welbourn, 2002).

Varios estudios en crustáceos procuran evaluar los efectos de los metales pesados tanto en la acumulación a nivel tisular (Rainbow, 1999; MacFarlane *et al.*, 2000), los disturbios en los procesos vitales esenciales, así como el crecimiento y la reproducción bajo condiciones de trabajo. Estas investigaciones pueden ayudar a inferir la influencia de los metales pesados en la salud y la supervivencia de las poblaciones, y, en último término, las interacciones a nivel de comunidad. Se han estudiado varias respuestas subletales a concentraciones ambientalmente relevantes de metales pesados a nivel de individuos o parámetros poblacionales en invertebrados de zonas estuariales. Por ejemplo, se observó que en laboratorio los metales pesados pueden producir interrupciones en la habilidad de nado en mísidos (Roast *et al.*, 2001), cambios de color fisiológicos (Fingerman *et al.*, 1998) e inhibición del crecimiento ovárico en el cangrejo violinista *Uca pugilator* (Rodríguez *et al.*, 2000), efectos en el consumo de oxígeno, excreción de amonio y osmorregulación en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Wu y Chen, 2004) así como impactos en las estructuras branquiales del camarón *Penaeus japonicus* (Soegianto *et al.*, 1999) entre otros. Además, se observaron reducciones en la fecundidad y reproducción en la especie *Neohelice granulata* expuesto a condiciones ambientalmente relevantes (Rodríguez *et al.*, 2007).

En la laguna costera Mar Chiquita se han registrado concentraciones disueltas de Zn elevadas (ver Capítulo II). Dada la gran importancia ecológica en esta laguna

de la especie clave presente *N. granulata*, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del Zn sobre el desarrollo embrionario de esta especie.

Los objetivos específicos fueron:

Evaluar el efecto de distintas concentraciones de Zn sobre el desarrollo embrionario de *N. granulata*.

- Evaluar los efectos del Zn durante el desarrollo embrionario temprano y tardío de *N. granulata*.
- Evaluar la mortandad de las larvas de *N. granulata* en presencia de distintas concentraciones de Zn.
- Evaluar la duración del desarrollo embrionario, la pérdida de huevos y la aparición de anomalías morfológicas de *N. granulata* en presencia de Zn.

Este trabajo de investigación es el primero en explorar las relaciones entre la presencia de este metal en la laguna costera Mar Chiquita y el desarrollo embrionario de esta especie clave, el cual permitirá predecir futuras consecuencias ecológicas en este ambiente.

V.3.2- Materiales y métodos

- **Obtención y aclimatación de los animales**

Los individuos fueron recolectados en el mismo lugar y como se indicó en el bioensayo I, durante los meses de enero y febrero del año 2006. En este caso se recolectaron hembras ovígeras que presentaban puestas de huevos recientes, diferenciadas a campo por su color violeta intenso; la talla seleccionada fue mayor a 20mm de ancho máximo de caparazón (AC) y se descartaron aquellas hembras que presentaron pérdidas de miembros u otras anomalías.

El período de aclimatación fue de 24 horas bajo las mismas condiciones empleadas en el ensayo.

- **Preparación del agua de dilución**

El agua fue preparada como se indicó en el bioensayo I.

- **Preparación de soluciones stock y de trabajo**

Las soluciones fueron preparadas como se indicó en el bioensayo I.

- **Protocolo para los ensayos de toxicidad**

El protocolo seguido fue tal como el descrito para el bioensayo I. En este caso la duración del ensayo fue el tiempo que tardó el desarrollo embrionario de los huevos en cada hembra.

Las hembras utilizadas fueron aquellas que se encontraban en el estadio de intermuda. Las mismas poseían óptimas condiciones y no presentaban pérdidas de miembros u otras anomalías. A cada hembra se le tomó una pequeña muestra de huevos que fueron inspeccionados bajo un microscopio óptico con el fin de

seleccionar sólo aquellas hembras con puestas de huevos recientes, es decir, aquellas que portaban embriones tempranos (huevos con el 100% del volumen ocupado por vitelo) de acuerdo a lo indicado por Bas y Spivak (2000).

A las hembras con estas características se les midió el AC con binocular micrométrico, y posteriormente fueron colocadas al azar en cada tratamiento. Durante los ensayos de toxicidad los individuos no fueron alimentados. El agua fue renovada cada 72 hs. En todos los ensayos se realizó el recuento de los individuos diariamente y los organismos muertos fueron removidos. El criterio de mortalidad adoptado fue la inmovilidad total luego de un pequeño estímulo táctil y la laxitud de apéndices.

Las condiciones ambientales utilizadas en los ensayos fueron: temperatura ambiente de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 7 - 8,2 upH, salinidad 20 ± 1 ups y un fotoperíodo de 14 hs luz : 10 hs oscuridad (luz fluorescente). Estas condiciones fueron un promedio de las condiciones registradas durante el período reproductivo (Marcovecchio *et al.*, 2006). Durante los ensayos se midió salinidad, temperatura, pH, y oxígeno disuelto. La aceptabilidad de cada ensayo estuvo dada por el porcentaje de mortalidad del control, el cual no debió superar el 10%.

En este bioensayo se llevaron a cabo dos experimentos diferentes. El primero se realizó con el fin de evaluar los efectos de distintas concentraciones de Zn sobre el desarrollo embrionario. En el segundo experimento, se evaluó el efecto del Zn en diferentes estadios del desarrollo embrionario.

NOTA:

Descripción del estadio zoea I- Desde el momento de la puesta y hasta su eclosión, aproximadamente 28 días después (López Greco y Rodríguez, 1999), las hembras ovígeras incuban los huevos bajo el pleon, permaneciendo éstos adheridos a los pleópodos.

La duración promedio del estadio zoea I de *N. granulata* es de 7 días (Boschi *et al.*, 1967). El largo total de este primer estadio larval es de 1,17 mm, con un largo de caparazón de 0,37 mm, siendo éste no muy globoso y con el margen posterior redondeado, provisto de dos espinas laterales y de una espina dorsal larga y aguda, curvada hacia atrás. Sus ojos son sésiles, con un rostro agudo y más largo que las antenas. Su telson es ancho, con su margen posterior cóncavo. Existen varios cromatóforos pardo-oscuros distribuidos en la base de la espina dorsal, de los maxilípedos y en la parte inferior de los somitos del abdomen; el resto del cuerpo

carece de cromatóforos y es muy transparente. Sus dos pares de maxilipedios son las principales estructuras vinculadas a la natación. Poseen un par de anténulas unirramosas cónicas, que lleva en las terminales tres estetascos y una seda lisa. Las mandíbulas son pequeñas y poseen una superficie cortante con cinco a seis dientes, pero no existe un palpo mandibular (Boschi *et al.*, 1967).

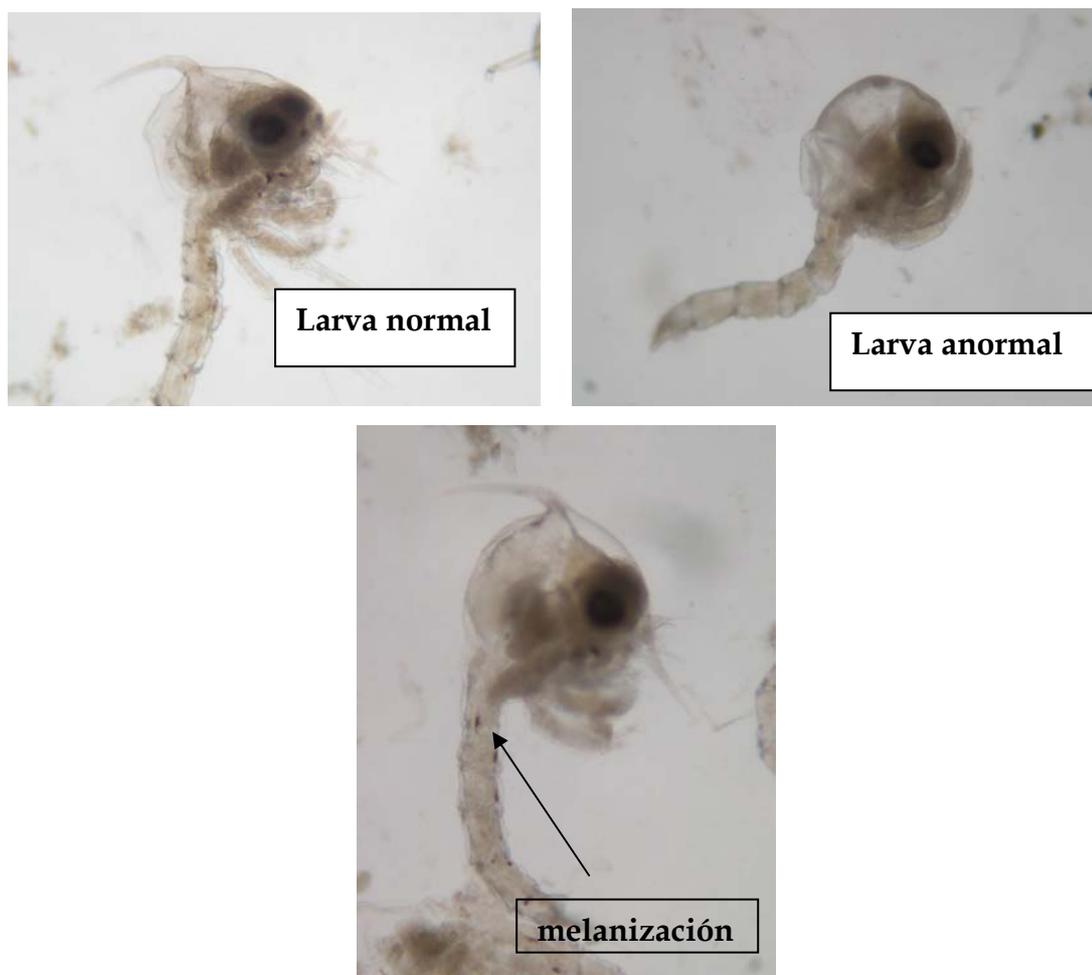
- Experimento 1: Efectos de distintas concentraciones de Zn sobre el desarrollo embrionario de *N. granulata*.

En este caso, las hembras ovígeras fueron asignadas al azar a tres tratamientos con concentraciones crecientes de Zn y expuestas a las respectivas concentraciones durante todo el desarrollo embrionario hasta la eclosión de las zoeas 1. Un total de 15 hembras fueron asignadas a cada tratamiento. Las concentraciones evaluadas fueron 1, 4 y 10 mgZn⁺² L⁻¹. Estas concentraciones se eligieron por ser mucho menores a las CL₅₀-96h registradas por Ferrer *et al.* (2006), mientras que la menor concentración empleada fue cercana a las encontradas en esta laguna (Capítulo II). Un número igual de hembras fue asignado a un grupo control, sin exposición al metal.

Cada 24 h se registró la mortalidad, pérdida de huevos y la eclosión de las larvas, y se removieron aquellas hembras que se encontraban muertas.

En todos los casos, se registró la fecha de eclosión de las larvas para determinar el tiempo total del desarrollo embrionario. Inmediatamente luego de cada eclosión, se removieron las larvas de cada hembra para medir su biomasa, procedimiento que fue realizado por duplicado en una muestra de 200 zoeas, y en el cual se registró el peso seco de cada muestra. Para esto, las muestras se transfirieron a cápsulas de papel de aluminio, fueron secadas durante 48 horas en estufa a 60° C y luego fueron pesadas con una balanza analítica (precisión 0.00001g). Además se tomaron por duplicado muestras de 10 ml de cada pool de larvas eclosionadas luego de agitarlo bien para lograr una correcta homogeneización de la muestra. Cada muestra se fijó en formalina al 5%. El número total de larvas eclosionadas por cada hembra fue estimado a partir de la media de las dos muestras en relación con volumen total de agua de cada acuario. Finalmente, se examinó bajo microscopio

óptico una submuestra de 50 larvas seleccionadas al azar para determinar la proporción de anomalías presentes en cada puesta. Las anomalías morfológicas buscadas que previamente fueron registradas por otros autores (Rodríguez y Medesani, 1994; Lavolpe *et al.*, 2004; Sánchez *et al.*, 2005) fueron: atrofia de espina dorsal (caracterizada por ser menor y por la falta de la forma normal), atrofia de las setas de los maxilipedios (cuando las setas estuvieron invaginadas o pobremente evaginadas en los segmentos distales de los maxilipedios), pleon y telson atrofiado (pleon más corto pero con un número normal de somitos), melanización del cuerpo (presencia de pigmentos oscuros en regiones corporales donde normalmente no están presentes), hipopigmentación de ojos (pérdida de pigmentación en omatidios) e hipertrofia de ojos (un mayor tamaño de ojos, frecuentemente con un contorno anormal) (Figura V.5). Sólo fue evaluada la presencia o ausencia de estas características anormales. No se tuvo en cuenta la presencia de otras anomalías.



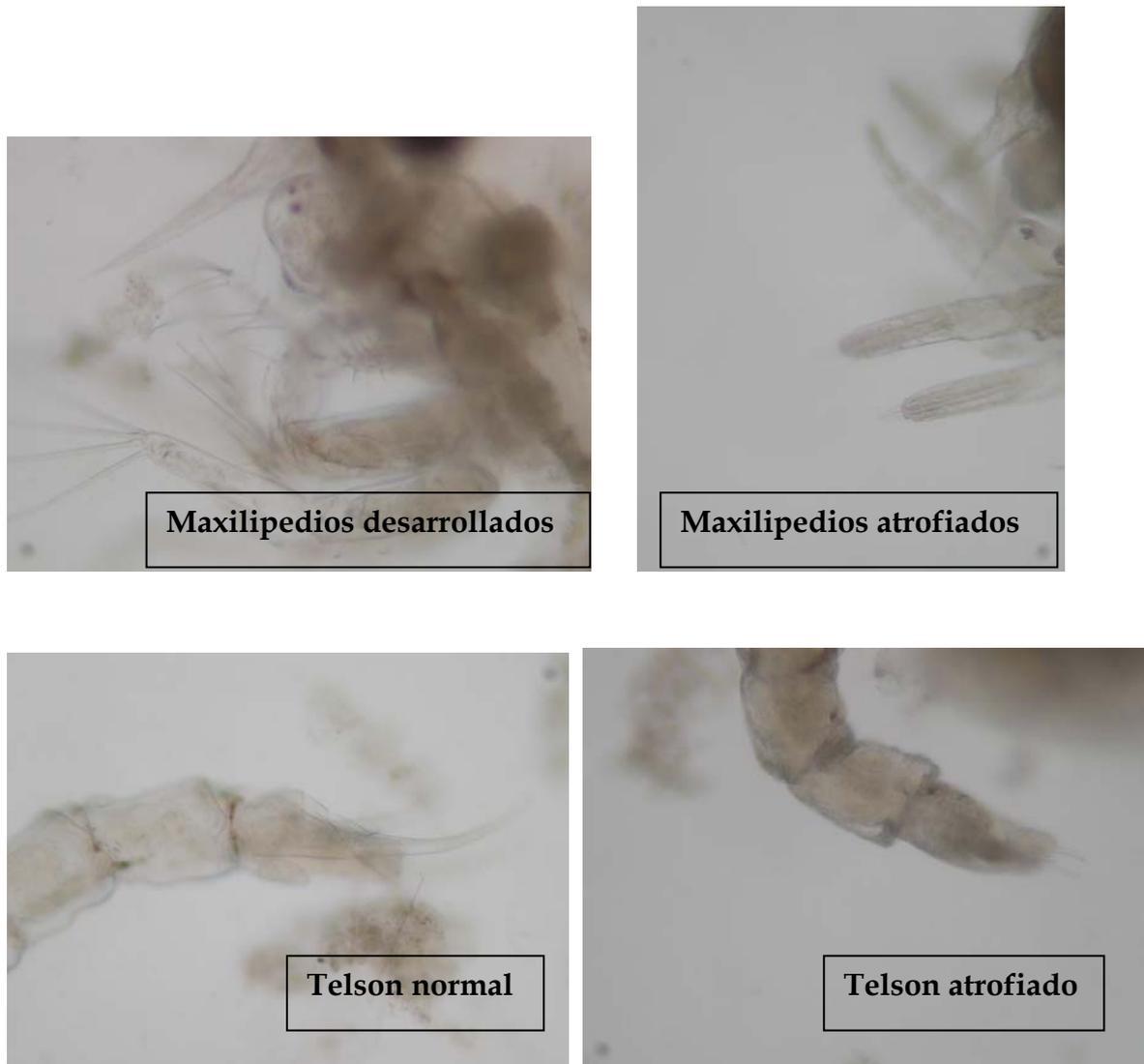


FIGURA V.5: ANORMALIDADES OBSERVADAS EN LARVAS ECLOSIONADAS DE HEMBRAS OVÍGERAS EXPUESTAS A ZINC.

- Experimento 2: Toxicidad del Zn en diferentes períodos del desarrollo embrionario

Se expuso un total de 15 hembras ovígeras a cada uno de los siguientes tratamientos con el fin de determinar que período del desarrollo embrionario resulta más sensible al Zn.

- 0-0: hembras sin exposición al tóxico durante el período completo de incubación de los huevos.

-
- Zn-Zn: hembras expuestas a 4 mg $Zn^{+2}.L^{-1}$ durante el período completo de incubación de los huevos.
 - 0-Zn: hembras sin exposición al tóxico durante los primeros siete días de incubación de los huevos y luego expuestas a 4 mg $Zn^{+2}.L^{-1}$ hasta la eclosión de los huevos.
 - Zn-0: hembras expuestas a 4 mg $Zn^{+2}.L^{-1}$ durante siete días y luego transferidas a agua en ausencia del tóxico.

Al igual que en el experimento 1, se registró cada 24 horas la mortalidad, la pérdida de huevos y la eclosión de las larvas. Las hembras muertas fueron removidas. También en todos los casos se determinó la duración del desarrollo embrionario, el número de larvas eclosionadas y la proporción de anomalías presentes en cada puesta.

- **Análisis estadístico**

Para el análisis de las frecuencias de muerte, asincronías en la eclosión de larvas y pérdidas de huevos fue utilizado el test de Chi-cuadrado de medias con la corrección de Yates para la continuidad. Se utilizaron test de ANOVA (Zar, 1999) para evaluar la hipótesis nula de que no existen diferencias entre tratamientos en el número de larvas eclosionadas, el tiempo de incubación, el peso seco de las larvas y la proporción de cada anomalía presente (luego de una transformación angular de los datos). Previamente se chequeó la normalidad y la homogeneidad de los datos. Las comparaciones entre cada tratamiento y con los controles se realizó con el método de diferencias mínimas significativas. Los límites de confianza en todos los casos fueron del 95%.

-V.3.3- Resultados

- Experimento 1

En el control, la supervivencia de las hembras fue del 100% a lo largo de todo el período de incubación de los huevos. Los análisis estadísticos mostraron que una mortalidad significativa más elevada ($P < 0,05$) y asincronía en la eclosión de las larvas se presenta sólo en el tratamiento con una mayor concentración de Zn (10 mg $Zn^{+2}.L^{-1}$). La asincronía en la eclosión de las larvas fue de 2-3 días. Ninguno de los tratamientos produjo un aumento significativo en la pérdida de huevos. El porcentaje de hembras muertas fue casi nulo en la menor concentración ensayada (*Figura V.5*).

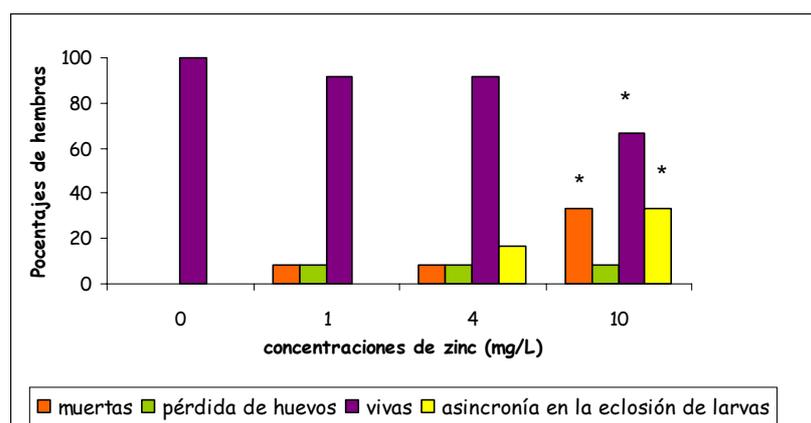


FIGURA V.5- VALORES DE LOS PORCENTAJES DE HEMBRAS VIVAS, MUERTAS, PÉRDIDAS DE HUEVOS Y ASINCRONÍA EN LA ECLOSIÓN DE LARVAS REGISTRADOS EN CADA TRATAMIENTO

(*) Diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto al grupo control.

No se detectaron diferencias significativas en el número de larvas eclosionadas ni en la biomasa de las larvas entre cada uno de los tratamientos (*Tabla V.2*).

TABLA V.2- MEDIA (\pm ERROR ESTANDAR) DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN, NÚMERO DE LARVAS ECLOSIONADAS Y PESO SECO DE LARVAS PARA CADA TRATAMIENTO. EL NÚMERO INICIAL DE HEMBRAS EN CADA TRATAMIENTO FUE DE 15.

* Indica diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto al grupo control.

Tratamiento	Tiempo de incubación (días)	Peso seco de larvas (mg/50 ind)	Número de larvas eclosionadas
Control	20,7 \pm 0,87	0,525 \pm 0,14	14371 \pm 3172
1 mg Zn ⁺² L ⁻¹	17,55 \pm 0,75	0,76 \pm 0,12	11845 \pm 3172
4 mg Zn ⁺² L ⁻¹	17,91 \pm 0,64	0,921 \pm 0,10	9754 \pm 4255
10 mg Zn ⁺² L ⁻¹	14,375 \pm 0,72*	0,91 \pm 0,12	17341 \pm 4255

Los embriones expuestos a Zn respondieron de manera diferente en cuanto al tiempo necesario para su desarrollo (*Tabla V.2*). Todos los tratamientos mostraron una disminución del tiempo requerido hasta la eclosión de las larvas con respecto al control; aunque esa diferencia sólo fue estadísticamente significativa en el tratamiento con 10 mg Zn⁺².L⁻¹. Las comparaciones realizadas con la duración del desarrollo en los embriones del grupo control (media de 20,7 días) con aquellos expuestos a 1 y 4 mg Zn⁺².L⁻¹ muestran que éstos requirieron un tiempo medio menor de 17,55 y 17,91 días de incubación, respectivamente, aunque el menor período de incubación (media de 14.8 días) se observó en los embriones expuestos a la mayor concentración de Zn⁺² (10 mg Zn⁺².L⁻¹).

La *Figura V.6* muestra las anomalías morfológicas presentes en las larvas de cada uno de los tratamientos. En todos los tratamientos en presencia de Zn se produce una significativa incidencia ($P < 0,05$) de melanización, hipopigmentación de ojos, atrofia de las setas de los maxilipedios y atrofia de la espina dorsal. Sólo en las concentraciones de 4 y 10 mg Zn⁺².L⁻¹ se produjo un significativo aumento en la incidencia de hipertrofia de ojos y atrofia del pleon.

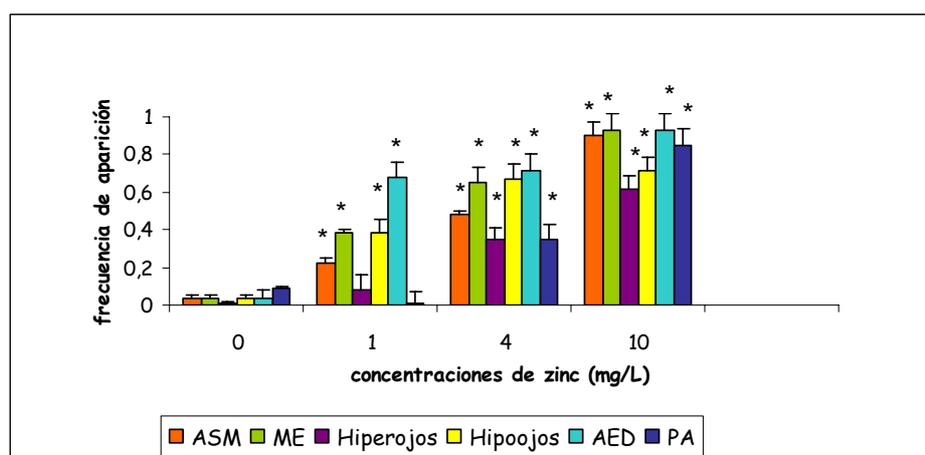


FIGURA V.6: ANORMALIDADES OBSERVADAS EN LARVAS ECLOSIONADAS DE HEMBRAS OVÍGERAS EXPUESTAS A ZINC. ASM: ATROFIA DE SETAS DE LOS MAXILIPEDIOS, ME: MELANIZACIÓN, HIPEROJOS: HIPERTROFÍA DE OJOS, HIPOOJOS: HIPOPIGMENTACIÓN DE OJOS, AED: ATROFIA DE LA ESPINA DORSAL Y AP: ATROFIA DE PLEON Y TELSON.

(*) Diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto al grupo control.

T: desvío estándar

- Experimento 2

La mortalidad en todos los tratamientos a lo largo de todo el desarrollo embrionario fue nula. Se registró una pérdida de huevos menor al 10% en los tratamientos Zn-Zn y 0-Zn.

Al igual que en el experimento 1, los embriones expuestos a Zn respondieron de manera diferente a los del grupo control con respecto a la duración del período del desarrollo embrionario (*Tabla V.3*). Las comparaciones realizadas con la duración del desarrollo en el grupo control (media de 14,9 días), mostraron que el grupo expuesto a Zn durante todo el desarrollo requirió un tiempo medio de 12,9 días, mientras que las exposiciones temprana y tardía a este metal requirieron un tiempo medio de incubación de 13,75 y 13,54 días respectivamente. La disminución del período de incubación fue mayor en el grupo expuesto a Zn durante todo el desarrollo embrionario. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas

($P < 0,05$) entre los tratamientos, aunque se observó una tendencia a la disminución del período de incubación en los grupos expuestos.

TABLA V.3- MEDIA (\pm ERROR ESTANDAR) DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN Y NÚMERO DE LARVAS ECLOSIONADAS PARA CADA GRUPO EXPERIMENTAL ENSAYADO. EL NÚMERO INICIAL DE HEMBRAS EN CADA TRATAMIENTO FUE 15

Tratamiento	Tiempo de incubación (días)	Número de larvas eclosionadas
0-0	14,9 \pm 0,75	13174 \pm 2952
Zn-0	13,75 \pm 0,72	13458 \pm 2557
0-Zn	13,54 \pm 0,75	8953 \pm 2801
Zn-Zn	12,9 \pm 0,75	9547 \pm 2671

No se detectaron diferencias en cuanto al número de larvas eclosionadas entre los cuatro grupos (*Tabla V.3*).

La mayor incidencia de gran parte de las anomalías morfológicas se observó en las hembras expuestas durante el período completo del desarrollo embrionario comparado con el resto de los tratamientos. La *Figura V.7* muestra las anomalías morfológicas detectadas en las larvas eclosionadas en todos los tratamientos, junto con los resultados de las comparaciones estadísticas entre todos los grupos. Las incidencias de hipertrofia de ojos e hipopigmentación observadas en los grupos Zn-Zn y 0-Zn fueron significativamente mayores ($P < 0,05$) que las observadas en los grupos control y Zn-0. Por otro lado, la incidencia de la atrofia de las setas de los maxilípedos, melanización, atrofia de la espina dorsal y atrofia del pleon y telson fueron mayores ($P < 0,05$) sólo en el grupo Zn-Zn con respecto a los otros tratamientos.

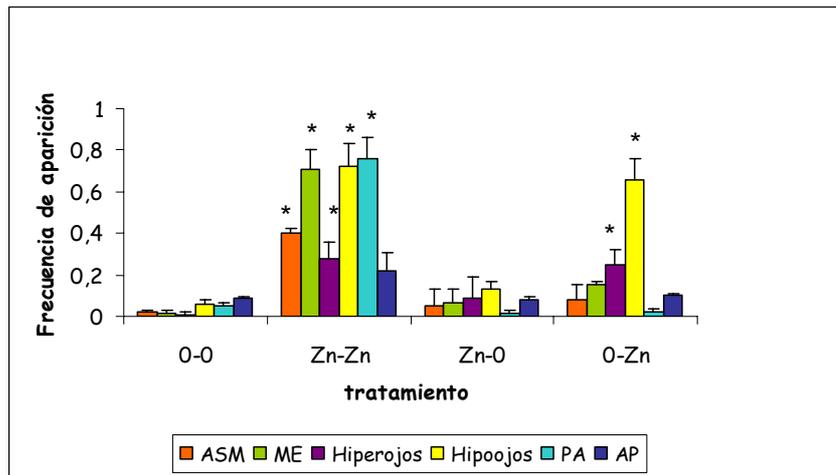


FIGURE V.7- FRECUENCIAS RELATIVAS DE APARICIÓN DE ANORMALIDADES OBSERVADAS EN LARVAS ECLOSIONADAS DE HEMBRAS OVÍGERAS EXPUESTAS A ZINC DURANTE LA ETAPA TEMPRANA, TARDÍA Y EL PERÍODO COMPLETO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO. (ZN-0, 0-ZN, ZN-ZN; 0-0 CONTROL). ASM: ATROFIA DE SETAS DE LOS MAXILIPEDIOS, ME: MELANIZACIÓN, HIPEROJOS: HIPERTROFIA DE OJOS, HIPOOJOS: HIPOPIGMENTACIÓN DE OJOS, AED: ATROFIA DE LA ESPINA DORSAL Y AP: ATROFIA DE PLEON Y TELSON.

(*) Diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto al grupo control.
 T: desvío estándar

V.3.4- Discusión

La exposición de hembras ovígeras durante el período de incubación de los huevos demostró ser un hecho crítico para las larvas eclosionadas. Los resultados obtenidos mostraron claramente que los embriones de *N. granulata* son mucho menos tolerantes que los adultos.

La exposición de hembras ovígeras a Zn no mostró ningún efecto en el número de larvas eclosionadas bajo ninguna de las concentraciones usadas. Sin embargo, se observó una significativa mortalidad y asincronía en la eclosión de larvas en el tratamiento en presencia de 10 mg Zn⁺².L⁻¹. Lavolpe *et al.* (2004) también registraron una asincronía en la eclosión de las larvas en el estudio realizado con esta misma especie en la población de la Bahía Samborombón.

En los cangrejos intermareales, la eclosión y la liberación de las larvas en muchos casos es sincrónica, y está relacionada con los ciclos circadianos, lunares y mareales (Saigusa, 2002), de acuerdo a la especie y al ambiente particular. En la población de la laguna Mar Chiquita se detectaron pulsos de eclosión sincronizadas con las mareas nocturnas durante las estaciones reproductivas (Anger *et al.*, 1994, Ituarte *et al.*, 2004), lo que permite a las larvas poder ser exportadas inmediatamente hacia el mar. Es posible que esta estrategia les permita evitar las bajas salinidades presentes en la laguna y escaparse de los depredadores. De hecho, las zoeas I de *N. granulata* no son capaces de sobrevivir por largo tiempo a salinidades reducidas (Anger y Ismael, 1997). Por lo tanto, si la eclosión de las larvas no fuera sincrónica, las larvas podrían quedar expuestas a salinidades a las cuales no podrían resistir mucho tiempo; además, si las larvas quedaran expuestas a depredadores aumentaría la mortalidad larval y pondría en riesgo la tasa de supervivencia, como consecuencia se generaría un impacto negativo a nivel poblacional.

Los embriones de *N. granulata*, en presencia de las mayores concentraciones de Zn evaluadas experimentan una disminución en la duración del desarrollo embrionario. En el estudio realizado por Lavolpe *et al.* (2004) con la población de *N. granulata* de Samborombón, no se observó esta disminución en la duración del

desarrollo. Otros estudios realizados con esta especie, también registraron un cambio en la duración del desarrollo embrionario en presencia de otros metales pesados. Sánchez *et al.* (2005) observó un retraso de este período en presencia de Hg; mientras que Zapata *et al.* (2001) y Rodríguez y Medesani (1994) observaron una disminución en la duración del desarrollo embrionario en presencia de Cu y Cd respectivamente. También en otras especies como en la centolla (o cangrejo rey) *Lhitodes santolla* se observó un tiempo de incubación de los embriones menor en presencia de Cd y un tiempo mayor en presencia de Pb (Amín *et al.*, 1998).

La reducción en el tiempo de incubación puede ser interpretada como un mecanismo de defensa de los embriones frente a la contaminación ambiental. Las zoeas podrían explorar otras zonas costeras donde la toxicidad es menor, y de esta forma evitar la presencia del contaminante. Los efectos tóxicos de los metales pesados sobre el sistema neuroendócrino de los embriones en desarrollo podrían ser la causa de la alteración tanto de la duración del desarrollo embrionario como de la asincronía en la eclosión. Un sitio de acción potencial de estos efectos podrían ser los pedúnculos oculares, donde probablemente se encuentra un marcador circamareal (*circatidal pacemaker*), el cual controla los patrones de eclosión en los cangrejos intermareales (Saigusa, 2002).

En todos los tratamientos se produjo una alta incidencia de melanización, hipopigmentación de ojos, atrofia de las setas de los maxilipedios y atrofia de la espina dorsal. Sólo en las concentraciones mayores, 4 y 10 mg Zn⁺².L⁻¹ se produjo un significativo aumento en la incidencia de hipertrofia de ojos y atrofia de pleon.

Las anomalías morfológicas causadas por Zn mostraron ser no específicas, ya que las mismas han sido observadas en estudios realizados sobre los efectos de otros metales pesados (Zapata *et al.*, 2001; Lavolpe *et al.*, 2004; Rodríguez y Medesani, 1994; Sánchez *et al.*, 2005).

Entre todas las anomalías observadas en este estudio, la atrofia de pleon junto con la hiperpigmentación de ojos fueron las menos sensibles. Por otro lado, Lavolpe *et al.* (2004) observaron que las características anormales en la pigmentación de ojos y cuerpo fueron las más sensibles en presencia del metal, ya que la incidencia de esta anomalía fue mayor a las del resto. En particular, los efectores pigmentarios

(cromatóforos y pigmentos retinales) demostraron ser estructuras muy sensibles a los metales ensayados en la población de *N. granulata* de Samborombón. Sin embargo, en el caso de la población de Mar Chiquita las estructuras más sensibles fueron las setas de los maxilipedios, la espina dorsal y los pigmentos corporales.

En este sentido, la secreción de hormonas que regulan tanto la migración de los pigmentos oculares como la migración de la melanina dentro de los cromatóforos es modulada por transmisores y moduladores neuronales, los cuales pueden ser alterados por los efectos de los contaminantes presentes (Fingerman *et al.*, 1998). El desarrollo ocular es controlado por el sistema nervioso (Hafner *et al.*, 1991), y el Zn es un agente neurotóxico; las anomalías oculares causadas por este metal pueden deberse a una falta de equilibrio en la actividad nerviosa que normalmente tiene lugar durante la formación del ojo.

La gran proporción de larvas que presentaron malformaciones puede estar relacionada con la eclosión temprana de las larvas con un subdesarrollo. Esto estuvo claramente sugerido por la correlación negativa entre el subdesarrollo de las espinas y setas y el tiempo de incubación detectado en la centolla en presencia de Cd y Pb (Amín *et al.*, 1998). Varias de estas patologías detectadas pueden producir efectos serios en la natación de las larvas, teniendo en cuenta que los maxilipedios y las espinas caudales y dorsales son cruciales en la natación. Se ha demostrado que el comportamiento larval es fundamental para la estrategia dispersiva, la colonización de nuevos hábitats y los procesos de reclutamiento. Alteraciones en el reclutamiento y en las tasas de producción, en el caso de importantes productores secundarios como son los cangrejos, en último término podría impactar sobre las dinámicas tróficas estuariales.

No se observaron diferencias en cuanto a la incidencia de atrofia de setas, melanización, atrofia de espina dorsal y atrofia de pleon en las exposiciones tardía y temprana al Zn durante el desarrollo embrionario de *N. granulata*. En cambio, sí se presentaron diferencias en cuanto a que la exposición tardía fue más sensible que la exposición temprana a la incidencia de hipertrofia de ojos e hipopigmentación. Lavalpe *et al.* (2004) observaron resultados similares, aunque en la población de Samborombón también se registró una mayor incidencia de melanización durante la

exposición tardía al metal. Estos resultados podrían estar relacionados con el hecho de que la diferenciación ocular se produce a mitad del desarrollo embrionario, proceso que progresa gradualmente hasta el final del desarrollo (Bas y Spivak, 2000). Además, los efectos tóxicos durante el desarrollo tardío podrían deberse a las modificaciones estructurales y de permeabilidad de las membranas embrionarias a lo largo del desarrollo embrionario de los huevos. Durante el último período del desarrollo embrionario, la permeabilidad de la membrana coriónica aumenta, permitiendo entonces la eclosión de las larvas (Glass *et al.*, 1997).

Las comparaciones realizadas entre los resultados obtenidos en este estudio y aquellos de experiencias similares realizados por otros autores con otros metales pesados sugieren grandes diferencias en la tolerancia a los metales pesados por los organismos. Algunos metales como el Cu, Hg y Pb han demostrado ser más tóxicos que el Zn.

Resultados similares fueron obtenidos por Lavolpe *et al.* (2004) para la población de la misma especie que habita en la Bahía Samborombón. Sin embargo, se observaron algunas diferencias en cuanto a la sensibilidad de las diferentes poblaciones al Zn. Esta variabilidad dentro de la misma especie podría estar relacionada con la historia previa experimentada por las hembras ovígeras y sus crías, incluyendo salinidad, disponibilidad de alimento, edad, temperatura, toxicidad, entre otras (Donker *et al.*, 1993), como también las diferencias genéticas dentro de las poblaciones. Así, las diferencias intra e interpoblacionales en los estados embrionarios y larvarios pueden surgir como resultado de la heterogeneidad en las condiciones ambientales del ambiente de cada población. El posible valor adaptativo de la plasticidad fenotípica, la capacidad de un simple genotipo de producir una variedad de fenotipos para especies que viven en ambientes impredecibles y heterogéneos, como son los estuarios, podrían ser una materia de estudio sumamente interesante. Los organismos que habitan en áreas contaminadas por metales pueden sufrir *stress* por la exposición a estos tóxicos y están posiblemente sujetos a selección, lo cual puede resultar en un aumento a la tolerancia al metal y cambios en el crecimiento y características reproductivas (Donker *et al.*, 1993).

V.4- CONCLUSIÓN

En este estudio, se demostró que el Zn, a altas concentraciones, puede afectar significativamente el crecimiento y muda de los juveniles y embriones de *N. granulata*. Lo destacable, es que estas concentraciones que afectan a los individuos, han sido registradas en algunas ocasiones en esta laguna costera. Los valores de metales disueltos encontrados, en algunas ocasiones superan 1 mg L^{-1} , los cuales podrían llegar a producir, de mantenerse en el tiempo, efectos crónicos en esta especie.

Desde un punto de vista ecotoxicológico, los efectos observados en los ensayos de toxicidad realizados representan una información de gran utilidad para evaluar el *status* ambiental de esta laguna costera, no sólo considerando los niveles presentes de este metal en este ecosistema, sino también los potenciales efectos de este contaminante sobre su biota.

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

El objetivo general de este trabajo fue estudiar la dinámica biogeoquímica de nutrientes y metales pesados en ambientes intermareales de la laguna costera Mar Chiquita y sus potenciales efectos ecotoxicológicos sobre una especie clave del ecosistema.

El estudio de las variables hidrográficas muestran que esta laguna es un sistema altamente heterogéneo y fluctuante. Esto se debe a que al ser un sistema micromareal y de muy baja profundidad, cualquier variación en cuanto a las descargas de cursos de aguas continentales o drenaje continental, condiciones meteorológicas (vientos, lluvias, temperaturas del aire), geomorfología, magnitud del ingreso de aguas oceánicas, generan un efecto pronunciado con variaciones diarias y estacionales de estos parámetros. La dinámica de las variables hidrográficas no estuvo gobernada por los ciclos de mareas.

Las aguas de esta laguna son ricas en nutrientes nitrogenados, de fósforo y de silicio durante todo el año. Sin embargo, las mayores concentraciones se presentaron a fines de otoño y en invierno, y también durante la primavera. La mayor biomasa fitoplanctónica coincidió con la mayor concentración de nutrientes.

En cuanto a la presencia de metales pesados en esta laguna y las comparaciones realizadas con ambientes similares en otros lugares del mundo permitió concluir que esta laguna presenta valores de estos elementos similares a los que se presentan en ambientes considerados contaminados. Se observaron picos de concentración de metales con valores muy altos. La dinámica de los metales en ninguna de las matrices estudiadas (disueltos, particulados en MPS o en sedimento) presentó un patrón temporal ni con respecto a los ciclos de mareas.

El estudio de los aportes de los tributarios de esta laguna indica que hay una gran presencia de nutrientes y metales pesados dentro de la cuenca, los cuales finalmente son introducidos en la laguna. El comportamiento de cada uno de los tributarios con respecto a los parámetros hidrológicos, nutrientes y metales pesados fue diferente. Cada uno de los tributarios presentó diferentes concentraciones de los compuestos estudiados de acuerdo a su recorrido y a las fuentes por las cuales

atravesada. Si bien todos los afluentes transportan grandes concentraciones de nutrientes, el Arroyo Grande y el Canal 7 son los tributarios que aportan en mayor grado compuestos nitrogenados hacia la laguna, mientras que los metales pesados son transportados en diferentes magnitudes por cada uno de los tributarios.

Los resultados obtenidos en cuanto a la presencia de nutrientes y metales pesados dentro de la laguna y en su cuenca de drenaje muestran una fuerte influencia de las actividades que se desarrollan en esta cuenca, especialmente de las actividades agro-ganaderas.

Los resultados de la bioacumulación de metales pesados en el cangrejo *N. granulata* indicaron que existe una variación estacional de la acumulación de metales en sus tejidos. Los organismos presentaron mayores concentraciones de la mayoría de los metales estudiados durante la primavera y/o verano. No se observan diferencias de acumulación en los distintos cangrejales estudiados, mientras que sí se observaron diferencias con respecto al sexo. Esta especie podría llegar a utilizarse como biomonitor de metales pesados en esta laguna.

El metal seleccionado para el estudio de sus efectos tóxicos fue el Zn debido a las concentraciones presentes que se observaron en el ambiente. Los ensayos de toxicidad se realizaron con el cangrejo cavadador *Neohelice granulata* ya que por sus características se considera una especie clave de este ecosistema.

Los ensayos de toxicidad mostraron que este metal produce efectos tóxicos crónicos sobre esta especie. Los efectos que se observaron en este trabajo fueron a nivel del desarrollo embrionario y a nivel del proceso de muda.

Durante el desarrollo embrionario se observó que la presencia de Zn produce una reducción del tiempo de incubación de los embriones y una asincronía en la eclosión de los huevos; además, los embriones nacen con presencia de ciertas anomalías morfológicas. En relación con proceso de muda se observó que este metal provoca un período de intermuda más extenso, es decir, que entre una muda y la sucesiva el tiempo que transcurre es mayor. Además, en presencia del tóxico disminuyó el peso corporal.

Finalmente, es posible concluir que esta tesis permitió obtener una visión integral sobre la dinámica de nutrientes y metales pesados en esta laguna costera.

No sólo se pudo observar cómo se comportan estos elementos dentro de la laguna, sino que, además, se estudió su dinámica en su cuenca de drenaje y sus principales efectos sobre la biota.

De esta manera, se concluye la necesidad del monitoreo permanente de nutrientes y metales pesados en esta laguna, así como el uso y el manejo adecuado de los mismos en la cuenca de drenaje.

BIBLIOGRAFÍA

-
- **Abril A.** y L. Roca, 2008. Impact of Nitrogen Fertilization on Soil and Aquifers in the Humid Pampa, Argentina. *The Open Agriculture Journal*, 2, 22-27.
 - **Addiscott T.M.B.**, 1996. Fertilisers and nitrate leaching. In: Hester,R.E., Harrison,R.M. (Eds.), *Agricultural Chemicals and the Environment*. Royal Society of Chemistry, Letchworth, U.K., 127 pp.
 - **Amín O.**, E. M. Rodríguez, M. Hernando, L. I. Comoglio, L. S. López y D. A. Medesani, 1998. Effects of lead and cadmium on hatching of the southern king crab *Lithodes santolla* (Decapoda, Anomura). *Invertebrate Reproduction and Development*, 33(1): 81-85.
 - **Anger K.** y D. Ismael, 1997. Growth and elemental composition (C, N, H) in larvae and early juvenil of the South American salt marsh crab, *Chasmagnathus granulatus* (Decapoda: Grapsidae). *Mangroves and Salts Marshes*, 1: 219-227.
 - **Anger K.**, C. Bas, E. Spivak, D. Ismael y T. Luppi, 1994. Hatching rhythms and dispersion of decapod crustacean larvae in a brackish coastal lagoon in Argentina. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 48: 445- 466.
 - APHA- AWWA- WEF, 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Clesceri, L.S., A. E. Greenberg, A. D. Eaton (Eds.), 20th Edition, *American Public Health Association*, Washington. 1200 pp.
 - **Atlas R.M.** y Bartha R., 2002. *Ecología microbiana y Microbiología ambiental*, Pearson Education, S. A., Madrid. 677pp.
 - **Barata C.**, C. Porte y D. J. Baird, 2004. Experimental designs to assess endocrine disrupting effects in invertebrates. A review. *Ecotoxicology*, 13: 511-517.
 - **Barry R. G. y R. Chorley**, 1980. *Atmósfera, tiempo y clima*. Editorial Omega, Barcelona.
 - **Bas C.** y E. Spivak, 2000. Effect of salinity on embryos of two Southwestern Atlantic estuarine grapsid crab species cultured in vitro. *Journal of Crustacean Biology*, 20: 647-656.
 - **Bellucci L. G.**, M. Frignani , D. Paolucci y M. Ravanelli, 2002. Distribution of heavy metals in sediments of the Venice Lagoon: the role of the industrial area. *The Science of the Total Environment*, 295: 35-49

-
- **Beltrame M.O.**, S. G. De Marco y J. E. Marcovecchio, 2008. Cadmium and zinc in Mar Chiquita coastal lagoon (Argentina): salinity effects on lethal toxicity in juveniles of the burrowing crab *Chasmagnathus granulatus*. *Archives of Environmental Contamination*, 55 (1): 75-85.
 - **Bendschneider K.** y R. J. Robinson, 1952. A new spectrophotometric determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research*, 11: 87 - 96.
 - **Benoit G.**, S.D. Oktay-Marshall, A. Cantu II, E. M. Hood, C. H. Coleman, M. O. Corapcioglu y P. H. Santschi, 1994. Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al, and Mn between filter-retained particles and solution in six Texas estuaries. *Marine Chemistry*, 45: 307-336.
 - **Benson N.G.**, 1981. The freshwater-inflow-to-estuaries issue. *Fisheries*, 6: 8-10.
 - **Bertness M. D.**, 1985. Fiddler crab regulation of *Spartina alterniflora* production on a New England salt marsh. *Ecology*, 66: 1042-1055.
 - **Bigi R.**, N. Verrengia-Guerrero, E. M. Rodríguez, E. Kesten y D. A. Medesani, 1996. Acute lethal toxicity and bioaccumulation of cadmium in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). En: *Pollution Processes in coastal Environments*, J. Marcovecchio (ed): pp 292-295.
 - **Bilos C.**, J. C. Colombo y M. J. Rodríguez Presa, 1998. Trace metals in suspended particles, sediments and Asiatic clams (*Corbicula fluminea*) of the Rio de la Plata Estuary, Argentina. *Environmental Pollution*, 99: 1-11.
 - **Boschi E.**, 1964. Los crustáceos decápodos Brachyura del litoral bonaerense (R. Argentina). *Boletín del Instituto de Biología Marina*, (Mar del Plata; Argentina) 6: 1-99.
 - **Boschi E.**, M. A. Scelzo y B. Goldstein, 1967. Desarrollo larval de dos especies de crustáceos decápodos en el laboratorio, *Pachycheles haigae* Rodríguez da Costa (Porcellanidae) y *Chasmagnathus granulata* (Grapsidae). *Boletín del Instituto de Biología Marina*, (Mar del Plata; Argentina), (12): 1-44.

-
- **Botté S.**, 2005. El rol de la vegetación en el ciclo biogeoquímico de humedales del estuario de Bahía Blanca. *Tesis Doctoral*. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina, 290 pp.
 - **Botté S. E.**, R. H. Freije y J. E. Marcovecchio, 2008. Dissolved heavy metal (Cd, Pb, Cr, Ni) concentrations in surface water and porewater from Bahía Blanca estuary tidal flats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79 (4): 415-421.
 - **Botto F.**, 2001. Efectos de bioturbación del cangrejo *Chasmagnathus granulata* sobre el sedimento, los organismos bentónicos y los chorlos migratorios. En: *Reserva de Biósfera Mar Chiquita. Características físicas, biológicas y ecológicas*, O. Iribarne (ed.). Ed. Martín. Mar del Plata, Argentina, pp 153-160.
 - **Botto F.** y O. Iribarne, 2000. Contrasting effects of two burrowing crabs (*Chasmagnathus granulata* and *Uca uruguayensis*) on sediment composition and transport in estuarine environments. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 51: 141-151.
 - **Botto J. L.** y H. L. Irigoyen, 1979. Bioecología de la Comunidad del Cangrejal. I. Contribución al conocimiento biológico del cangrejo de estuario *Chasmagnathus granulata* Dana (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) en la desembocadura del Río Salado, Provincia de Buenos Aires. En: Seminario sobre Ecología Bentónica y sedimentación de la Plataforma Continental del Atlántico Sur. UNESCO, pp. 161-169.
 - **Borgmann U.**, 2000. Methods for assessing the toxicological significance of metals in aquatic ecosystems: bio-accumulation-toxicity relationships, water concentrations and sediment spiking approaches. *Aquatic Ecosystem and Health Management*, 3: 277-289.
 - **Borum J.**, 1997. Ecology of coastal waters and their response to eutrophication. In: Sand-Jensen, K., Pedersen, O. (Eds.), *Freshwater Biology, Priorities and Development in Danish Research*. G.E.C. Gad, Copenhagen, Denmark, pp. 102-115.
 - **Borum J.**, 1996. Shallow waters and land/sea boundaries. En: Jørgensen, B. B. and Richardson, K. (eds.), *Coastal and Estuaries Studies: Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems*. American Geophysical Union, Washington, DC: 179-203.

-
- **Bryan M.D.**, G. J. Atchison y M. D. Sandheinrich, 1995. Effects of cadmium on the foraging behavior and growth of juvenile bluegill, *Lepomis macrochirus*. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences*, 52: 1630–1638.
 - **Bryan G.W.** y W.J. Langston, 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution*, 76: 89–131.
 - **Burger J.**, C. Dixon, T. Shukla, N. Tsipoura, y M. Gochfeld, 2002. Metal levels in horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*) from Maine to Florida. *Environmental Research*, 90: 227–236.
 - **Caceci T.**, K. Neck, D. Lewis y R. F. Sis, 1988. Ultra structure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Journal of Marine Biology Assoc. U.K.* 68: 323-337.
 - **Caetano M.**, C. Vale y M. Falcão, 2006. Particulate metal distribution in Guadiana estuary punctuated by flood episodes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 70: 109-116.
 - **Camusso M.**, S. Crescenzo, W. Martinotti, P. Pettine y R. Pagnotta, 1997. Behavior of Co, Fe, Mn and Ni in the Po Estuary Italy. *Water, Air and Soil Pollution*, 99: 297–304.
 - **Capello V.** y N. Fortunato, 2008. *Agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires: información ecotoxicológica y aspectos ambientales*. Dirección Provincial de recursos naturales. Programa gestión ambiental en agroecosistemas. OPDS, 153 pp.
 - **Caumette P.**, J. Castel y R. Herbert (Eds.), 1996. Coastal Lagoon Eutrophication and Anaerobic Processes. Nitrogen and sulfur cycles and population dynamics in coastal lagoons *Developments in Hydrobiology*, Vol. 117. Kluwer Academic Publishers Dordrecht, pp 256.
 - **Censi P.**, S.E. Spoto, F. Saiano, M. Sprovieri, S. Mazzola, G. Nardone, S.I. Di Geronimo, R. Punturo and D. Ottonello, 2006. Heavy metals in coastal water systems. A case study from the northwestern Gulf of Thailand. *Chemosphere*, 64: 1167–1176.
 - **Chang E.S.**, M. J. Bruce y S. L. Tamone, 1993. Regulation of crustacean molting: a multihormonal system. *American Zoologist*, 33: 324– 329.

-
- **Chapman P. M.**, F. Wang, C. R. Janssen, R. R. Goulet y C. N. Kamunde, 2003. Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids: Current status. *Human and ecological risk assessment*, 9: 641-697.
 - **Cheung T.S.**, 1966. The development of egg-membranes and egg attachment in the shore crab, *Carcinus maenas*, and some related decapods. *Journal of Marine Biology Assoc. UK* 46: 373- 400.
 - **Chong K.** y W. X. Wang, 2000. Assimilation of cadmium, chromium and zinc by the green mussel *Perna viridis* and the clam *Ruditapes philippinarum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 1600-1667.
 - **Cloern J.E.**, 2001. Our evolving conceptual model of coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series*, 210: 223-253.
 - **Coman G. J.**, Arnold, S.J., Callaghan, T.R., y Preston N.P., 2007. Effect of two maturation diet combinations on reproductive performance of domesticated *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 263: 75-83.
 - **Cresser M.**, K. Killham y T. Edwards, 1993. Soil chemistry and its applications. Cambridge Environmental Series, C.U.P., Cambridge, U.K., 192 pp.
 - **De Marco S. G.**, 2002. Características hidrológicas y bioópticas de las aguas de la laguna costera Mar Chiquita y su relación con el fitoplancton. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Argentina. 171 pp.
 - **De Marco S. G.**, M. O. Beltrame, R. H. Freije y J. E. Marcovecchio, 2005. Phytoplankton dynamic in Mar Chiquita Coastal Lagoon (Argentina), and its relationship with potential nutrient sources. *Journal of Coastal Research*, 21 (4): 818-825.
 - **DeBusK W.**, 1999a. Functional role of wetlands in watersheds. En: Soil and Water Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Science, University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu>.
 - **De Francesco C. G.** y F. Isla, 2001. Gasterópodos bioindicadores de salinidad en Mar Chiquita. En: *Reserva de Biósfera Mar Chiquita. Características físicas, biológicas y ecológicas*, O. Iribarne (ed.). Ed. Martín. Mar del Plata, Argentina, pp 115-119.

-
- **del Amo Y., O. Le Pape, P. Tréguer, B. Quéguiner, A. Ménesguen y A. Aminot, 1997.** Impacts of high-nitrate freshwater inputs on macrotidal ecosystems. I. Seasonal evolution of nutrient limitation for the diatom dominated phytoplankton of the Bay of Brest (France). *Marine Ecology Progress Series*, 161: 213-224.
 - **Depledge M.H. y M. C. Fossi, 1994.** The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. *Ecotoxicology*, 3: 161-172.
 - **Doering P. H., C. A. Oviatt, B. L. Nowicki, E. G. Klos y L. W. Reed, 1995.** Phosphorus and nitrogen limitation of primary production in a simulated estuarine gradient. *Marine Ecology Progress Series*, 124: 271-287.
 - **Dolbeth M., M. A. Pardal, A. I. Lillebø, U. Azeiteiro y J. C. Marques, 2003.** Short- and long-term effects of eutrophication on the secondary production of an intertidal macrobenthic community. *Marine Biology*, 143 (6): 1229-1238.
 - **Domingues R. B., A. Barbosa y H. Galvão, 2005.** Nutrients, light and phytoplankton succession in a temperate estuary (the Guadiana, south-western Iberia). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 64, 249-260.
 - **Donker M. H., C. Zonneveld y N. M. van Straalen, 1993.** Early reproduction and increased reproductive allocation in metal-adapted populations of the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Oecologia*, 96 (3): 316-323.
 - **Dubravko J., N. N. Rabalais, R. E. Turner y Q. Dortch, 1995.** Changes in nutrient structure of river-dominated coastal waters: stoichiometric nutrient balance and its consequences. *Estuarine, Coastal, Shelf Science*, 40: 339-356.
 - **Duquesne S., L. C. Newton, L. Giusti, S. B. Marriott , H. Stärk y David J. Bird, 2006.** Evidence for declining levels of heavy-metals in the Severn Estuary and Bristol Channel, U.K. and their spatial distribution in sediments. *Environmental Pollution*, 143: 187-196.
 - **Eberlein K. y G. Kattner, 1987.** Automatic method for determination of orthophosphate and total dissolved phosphorus in the marine environment. *Fresenius. Z. Anal. Chem.*, 326: 354 - 357.
 - **Emmerson R. H. C., S. B. O'Reilly-Weise, C. L. Macleod y J. N. Lester, 1997.** A multivariate assessment of metal distribution in intertidal sediments of the Blackwater Estuary, UK. *Marine Pollution Bulletin*, 34(11): 960-968.

-
- **Eriksson S. P.**, 2000. Variations of manganese in the eggs of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.). *Aquatic Toxicology*, 48: 291–295.
 - **Fan H.** y H. Huang, 2008. Response of coastal marine eco-environment to river fluxes into the sea: A case study of the Huanghe (Yellow) River mouth and adjacent waters. *Marine Environmental Research*, 65: 378–387.
 - **Fanjul E.**, M. A. Grela, A. Canepuccia y O. Iribarne, 2008. The Southwest Atlantic intertidal burrowing crab *Neohelice granulata* modifies nutrient loads of phreatic waters entering coastal area. *Estuarine Coastal and Shelf Sciences*, doi:10.1016/j.ecss.2008.04.005.
 - **FAO**, Reish D. J. y P. S. Oshida, 1987. Short - term static bioassays. Part 10. FAO, *Documento Técnico de Pesca*, 247:62pp.
 - **FAO**, Ward G.S. y P.R. Parrish, 1982. Toxicity tests. Part 6. FAO, *Documento Técnico de Pesca*, 185: 23 pp.
 - **Fasano J. L.**, M. A. Hernández, F. I. Isla y E. J. Schnack, 1982. Aspectos evolutivos y ambientales de la laguna Mar Chiquita (provincia de Buenos Aires, Argentina). *Oceanologica Acta* N° SP: 285-292.
 - **Fasano J.L.**, 1980. Geohidrología de la laguna Mar Chiquita y alrededores, provincia de Buenos Aires. *Proc. Simposio Problemas Geológicos del Litoral Atlántico Bonaerense*. Mar del Plata pp. 59-71.
 - **Fasano J. L.**, 1979. Geología y geomorfología, Región III, Faro Querandí-Mar de Cobo, provincia de Buenos Aires. *Informe final*, CFI, Universidad Nacional de Mar del Plata.
 - **Feng H.**, J., K. Cochran y D. J. Hirschberg, 2002. Transport and sources of metal contaminants over the course of tidal cycle in the turbidity maximum zone of the Hudson River estuary. *Water Research*, 36: 733–743
 - **Ferrer L.**, 2001. Estudios de diversos metales pesados en sedimentos del estuario de Bahía Blanca y sus efectos sobre el cangrejo *Chasmagnathus granulata*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, 205 pp.
 - **Ferrer L.**, S. Andrade, R. Astesuain, y J. Marcovecchio, 2006. Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65: 209-217.

-
- Ferrer L., E. Contardi, S. J. Andrade, R. Asteasuain, A. E. Pucci y J. E. Marcovecchio, 2000. Environmental cadmium and lead concentrations in the Bahía Blanca Estuary (Argentina). Potential toxic effects of Cd and Pb on crab larvae. *Oceanologia*, 42 (4): 493–504.
 - Fialkowski W., E. Fialkowska, B. D. Smith, y P. S. Rainbow, 2003a. 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 Hydrobiolgy*, 88:1 87–200.
 - Fialkowski W., M. Klonowska-Olejnik, B. D. Smith y P. S. Rainbow, 2003b. Mayfly larvae (*Baetis rhodani* and *B. vernus*) as biomonitors of trace metal pollution in streams of a catchment draining zinc and lead mining area of Upper Silesia, Poland. *Environmental Pollution*, 121: 253–267.
 - Fingerman M., 1997. Roles of neurotransmitters in regulating reproductive hormone release and gonadal maturation in decapod crustaceans. *Invertebrate Reproduction and Development*, 31: 47-54.
 - Fingerman M., N. C. Jackson y R. Nagabhushanam, 1998. Hormonally-regulated functions in crustaceans as biomarkers of environmental pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 120: 343-350.
 - Fingerman M., M. Devi, P. S. Reddy y R. Katyayani, 1996. Impact of heavy metal exposure on the nervous system and endocrine-mediated processes in crustaceans. *Zoological Studies*, 35: 1-8.
 - Fisher T.R., A. B. Gustafson, K. Sellner, R. Lacouture, L. W. Haas y R. L. Wetzel, 1999. Spatial and temporal variation of resource limitation in Chesapeake Bay. *Marine Biology*, 133: 763–778.
 - Flegal, A.R., G. J. Smith, G. A. Gill, S. Sañudo-Wilhelmy y L. C. D. Anderson, 1991. Dissolved trace element cycles in the San Francisco Bay estuary. *Marine Chemistry*, 36: 329–363.
 - Förstner U., 1995. Non-linear release of metals from aquatic sediments. In: *Biogeochemistry of Pollutants in soils and sediments*. Salomons W. y W. Stigliani (eds.), Springer, pp. 247-307.

-
- **Förstner U.** y G.T. Wittmann (eds.), 1983. *Metal pollution in the aquatic environment*. Springer-Verlag, Heidelberg , 486 pp.
 - **Freije R. H.** y J. E. Marcovecchio, 2004. Oceanografía Química. En: Píccoli, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (Eds.), *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*, Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina, (ISBN 987-9281-96): 69 – 78.
 - **Freije. R. H.**, R. Asteasuain, C. Rusansky, L. Ferrer, S. Andrade, S. De Marco, V. Pozzobon y J. Marcovecchio, 1996. Spatial and temporal distribution of inorganic micronutrients in Mar Chiquita Coastal Lagoon (Argentina). En: *Pollution Processes in Coastal Environments*, J. E. Marcovecchio (ed.), U.N.M.d.P., Ch.I: pp. 133-139.
 - **Galloway J. N.**, 2005. The Global Nitrogen Cycle. En: Schlesinger, W. H. (Ed.). *Biogeochemistry*; Holland, H. D. and Tokerian, K. K. (Eds.); *Treatise on Geochemistry*, 8. Elsevier – Pergamon, Oxford: 557 – 583.
 - **Gardolinski P. C. F.**, G. Hanrahan, E. C. Achterberg, M. Gledhill, A. D. Tappin, W. A. House y P. J. Worsfold, 2001. Comparison of sample storage protocols for the determination of nutrients in natural waters. *Water Research*, 35 (15): 3670 – 3678.
 - **Gavio A.**, T. Luppi, S. Obenat, y E. Spivak, 1994. Historia de vida de *Chasmagnathus granulata* en la albufera Mar Chiquita. Resumen II. Taller sobre cangrejos y cangrejales, Mar del Plata, Argentina.
 - **Ghekiere A.**, T. Verslycke, N. Fockedey y C. R. Janssen, 2006. Non-target effects of the insecticide methoprene on molting in the estuarine crustacean *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 332: 226-234.
 - **Gil M. N.**, 2001. Eutroficación: rol del nitrógeno en ecosistemas marino costeros. *Tesis Doctoral*, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina: 132 pp.
 - **Giordano R.**, L.Musmeci, L. Ciaralli, I. Vernillo, M. Chirico, A. Piccioni y S. Constantini, 1992. Total contents and sequential extractions of mercury,

- cadmium and lead in coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 24(7): 350-357.
- **Glass P. S.**, L. A. Courtnes, J. R. Rayburn, y W. S. Fisher, 1997. Embryonic coat of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. *Biological Bulletin*, 192: 231-242.
 - **Grange N.**, A. K. Whitfield, C. J. De Villiers y B. R. Allanson, 2000. The response of two South African east coast estuaries to altered river flow regimes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 10: 155-177.
 - **Grashoff K.**, 1976. Filtration and Storage. En: *Methods of Seawater Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, New York: pp 21 - 24.
 - **Grasshoff K.**, M. Erhardt y K. Kremling, 1983. *Methods of Seawater Analysis*, 2nd Edition, Verlag-Chemie, Weinheim: 365 - 366.
 - **Guns M.**, P. Van Hoeyweghen, W. Vyncke y H. Hillewaert, 1999. Trace metals in selected benthic invertebrates from Belgian coastal waters (1981 - 1996). *Marine Pollution Bulletin*, 38(12): 1184-93.
 - **Hafner G. S.**, T. Tokarsky, y J. Kipp, 1991. Changes in the microvillus cytoskeleton during rhabdom formation in the retina of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Neurocytology*, 20, 585-596.
 - **Hansen D.J.**, 1984. Utility of toxicity test to measure effects of substances on marine organisms. In: *Concepts in marine pollution measurements*. H. White (ed.), Maryland Seagrass College, pp. 35 - 56.
 - **Hartnett M.** y S. Nash, 2004. Modelling nutrient and chlorophyll *a* dynamics in an Irish brackish waterbody. *Environmental Modelling & Software*, 19: 47-56.
 - **Hartnoll R.**, 2001. Growth in Crustacea twenty years on. *Hydrobiologia* 449: 111-122.
 - **Hatje V.**, S.C. Apte, L.T. Hales y G.F. Birch, 2003. Dissolved trace metal distributions in Port Jackson estuary (Sydney Harbour), Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 719-730
 - **Hauxwell J.** y I. Valiela, 2004. Effects of nutrient loading on shallow seagrass dominated coastal systems: patterns and processes. In: Nielsen, S.L., Banta, G.T., Pedersen, M.F. (Eds.), *Estuarine Nutrient Cycling: The influence of Primary Producers*. Kluwer Academic Publishers, London, pp. 59-92.

-
- **Heggie D.**; D. Fredericks, C. Smith, L. Radke, E. Murray y I. Atkinson, 2002. Sediments Nutrient Fluxes and Eutrophication. *Coast to Coast*, 165 – 168.
 - **His E.**, I. Heyvang, O. Geffard y X. De Montauduin, 1999. A comparison between oyster (*Crassostrea gigas*) and sea urchin (*Paracentrotus lividus*) larval bioassays for toxicological studies. *Water Research*, 33: 1706-1718.
 - **Ho A. Y.T.**, J. Xu, K. Yin, X. Yuan, L. He, Y. Jiang, J. H. W. Lee, D. M. Anderson y P. J. Harrison, 2008. Seasonal and spatial dynamics of nutrients and phytoplankton biomass in Victoria Harbour and its vicinity before and after sewage abatement. *Marine Pollution Bulletin*, doi:10.1016/j.marpolbul.2008.04.035
 - **Iribarne O.**, F. Botto, P. Martinetto y J. Gutierrez, 2000. The role of the SW Atlantic burrowing crab in sequestering debris. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1057-1062.
 - **Iribarne O.**, A. Bortolus y F. Botto, 1997. Between-habitat differences in burrow characteristics and trophic modes in the southwestern Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulata*. *Marine Ecology Progress Series*, 155: 137-145.
 - **Isla F.I.**, 1997. Seasonal behavior of Mar Chiquita tidal inlet in relation to adjacent beaches, Argentina. *Journal of Coastal Research*, 13: 1221-1232.
 - **Isla F.I.**, 1980. Evolución morfológica de la zona de la desembocadura de la laguna Mar Chiquita. Provincia de Buenos Aires. 9º Congreso Geológico Argentino, S.C. de Bariloche. *Actas* 6: 218-242.
 - **Isla F.I.** y E. S. Gaido, 2001. Evolución geológica de la laguna Mar Chiquita. En: Iribarne, O. (ed.) *Reserva de Biosfera Mar Chiquita. Características físicas, biológicas y ecológicas*. Universidad Nacional de Mar del Plata, Editorial Martín, Mar del Plata, pp. 19-30.
 - **Ittekkot V.**, C. Humborg y P. Schafer, 2000. Hydrological alterations and marine biogeochemistry: a silicate issue? *Bioscience*, 50: 776-782.
 - **Ituarte R.**, E. Spivak, y T. Luppi, 2004. Female reproductive cycle of the Southwestern Atlantic estuarine crab *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Grapsoidea: Varunidae). *Scientia Marina*, 68 (1): 127-137.

-
- **Jiann K-T**, L-SWen y P. H. Santschi, 2005. Trace metal (Cd, Cu, Ni and Pb) partitioning, affinities and removal in the Danshuei River estuary, a macro-tidal, temporally anoxic estuary in Taiwan. *Marine Chemistry*, 96: 293– 313.
 - **Kabata-Pendias A.**, 1995. Agricultural problems related to excessive trace metal contents in soils. In: Salomons, W., Forstner, U., Mader, P. (Eds.), *Heavy Metals: Problems and Solutions*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 3–18.
 - **Kannan K.**, Y. Yasunaga, H. Iwata , H. Ichihashi, S. Tanabe y R. Tatsukawa. Concentrations of heavy metals, organochlorines, and organotins in Horseshoe Crab, *Tachypleus tridentatus*, from Japanese coastal waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 28: 40-7.
 - **Kennish M.J.**, 2002. Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*, 29: 78–107.
 - **Kidd P.S.**, M. J. Domínguez-Rodríguez, J. Díez y C. Monterroso, 2007. Bioavailability and plant accumulation of heavy metals and phosphorus in agricultural soils amended by long-term application of sewage sludge. *Chemosphere*, 66: 1458–1467.
 - **Kimmel D.G.** y M. R. Roman, 2004. Long-term trends in mesozooplankton abundance in Chesapeake Bay USA: influence of freshwater input. *Marine Ecology Progress Series*, 267: 71–83.
 - **Kjerfve B.**, 1994. Coastal lagoons process. Elsevier Oceanography Series, 60, Elsevier Science Publishers.
 - **Kogan M.**, L. López Greco, L. Romano, y E. Rodríguez, 2000. Effects of cadmium on somatic and gonadal growth of juveniles females of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Brachyura: Grapsidae). *Zoological studies*, 39 (4): 344-350.
 - **Koirtyohann S. R.** y J. N. Wen, 1973. Critical study of the AEDC-MIBK extraction system for the absorption. *Analytical chemistry*, 45 (12):1986-1989.
 - **Kraepiel A. M. L.**, J. F. Chifoleau, J. M. Martin y F. M. M. Morel, 1997. Geochemistry of trace metals in the Gironde estuary. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61: 1421-1436.

-
- **Kremling K.**, 1999. Determination of trace metals. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds) *Methods of seawater analysis*, Verlag-Chemie, Heidelberg, Germany, 10: 183-191.
 - **Krishnaja A. D.**, M. S. Rege y A. G. Joshi, 1987. Toxic effects of certain heavy metals (Hg, Cd, Pb, As and Se) on the intertidal crab *Scylla serrata*. *Marine Environmental Research*, 21: 109- 19.
 - Krumbein, W.C. and F.J. Pettijohn**, 1938. 1st sedimentary petrography. Applewton. Century Crafts. 549 pp.
 - **Landajo, A.**, G. Arana, A. de Diego, N. Etxebarria, O. Zuloaga y D. Amouroux, 2004. Analysis of heavy metal distribution in superficial estuarine sediments (estuary of Bilbao, Basque Country) by open focused microwave-assisted extraction and ICP-OES. *Chemosphere*, 56: 1033-1041.
 - **Lanfredi N. W.**, C. F. Balestrini, C. A. Mazio y S. A. Schmidt, 1987. Tidal sandbanks in Mar Chiquita coastal Lagoon, Argentina. *Journal of Coastal Research*, 3: 515-520.
 - **Lavín M.F.** y S. Sánchez, 1999. On how the Colorado River affected the hydrography of the upper Gulf of California. *Continental Shelf Research*, 19: 1545-1560.
 - **Lavolpe M.**, L. López Greco, D. Kesselman, y E. Rodríguez, 2004. Differential toxicity of copper, zinc and lead during the embrionic development of *Chasmagnathus granulata* (Brachyura, Varunidae). *Environmental and Toxicology Chemistry*, 23: 960-967.
 - **Leston S.**, A.I. Lillebø y M.A. Pardal, 2008. The response of primary producer assemblages to mitigation measures to reduce eutrophication in a temperate estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 77: 688-696.
 - **Levington J. S.**, 1989. Deposit feeding and coastal oceanography. En: *Ecology of marine deposit feeders*. Lecture Notes on coastal and estuarine studies. López G., G. Taghon, J. Levinton (eds), Springer-Verlag, New York: 1-23.
 - **Lillebø A.I.**, J.M. Neto, I. Martins, T. Verdelhos, S. Leston, P. G. Cardoso, S. M. Ferreira, J. C. Marques y M. A. Pardal, 2005. Management of a shallow

- temperate estuary to control eutrophication: the effect of hydrodynamics on the system nutrient loading. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 65: 697-707.
- **Lopes C.B.**, A.I. Lillebø, J.M. Dias, E. Pereira, C. Vale y A.C. Duarte, 2007. Nutrient dynamics and seasonal succession of phytoplankton assemblages in a Southern European Estuary: Ria de Aveiro, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 71: 480-490.
 - **López Greco L. S.**, E. M. Rodríguez, J. Bolaños, G. Hernández y M. Fingerman, 2002. Toxicity of copper sulphate during early and late embryonic development of a palaemonid shrimp (Crustacea). *Invertebrate Reproduction and Development*, 41(1-3): 165-170.
 - **López Greco L. S.**, J. Bolaños, E. M. Rodríguez y G. Hernández, 2001a. Survival and molting of the Pea Crab Larvae *Tunicotheres moseri* Rathbun 1918 (Brachyura, Pinnotheridae) exposed to Copper. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40: 505-510.
 - **López Greco L. S.**, M. V. Sánchez, G. L. Nicoloso, D. A. Medesani y E. M. Rodríguez, 2001b. Toxicity of cadmium and copper on larval and juvenile stages of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Brachyura, Grapsidae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 41: 333-338.
 - **López Greco L.** y E. Rodríguez, 1998. Somatic growth in juveniles of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* Dana 1851 (Brachyura, Grapsidae), under laboratory conditions. *Investigaciones Marinas, Valparaiso*, 26: 127-135.
 - **López Greco L.**, V. Stella y E. Rodríguez, 1997. Size at onset of sexual maturity in *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Nauplius, Rio Grande*, 5(2): 65-75.
 - **Luppi T.A.**, E. D. Spivak, K. Anger y J. L. Valero, 2002a. Patterns and processes of *Chasmagnathus granulata* and *Cyrtograpsus angulatus* (Brachyura: Grapsidae) recruitment in Mar Chiquita Coastal Lagoon, Argentina. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 55: 287-297.
 - **Luppi T.**, E. Spivak y K. Anger, 2002b. Post settlement growth of two estuarine crab species, *Chasmagnathus granulata* and *Cyrtograpsus angulatus* (Crustacea,

- Decapoda, Grapsidae): laboratory and field investigations. *Helgoland Marine Research*, 55: 293-305.
- **Maceira N. O.**, D. K. Zelaya, J. P. Celemín y O. N. Fernández, 2005. Uso de la tierra y elementos para el mejoramiento y la sustentabilidad. Reserva de la Biosfera de Mar Chiquita, Provincia de Buenos Aires. Evaluación Preliminar. INTA. Programa MAB-UNESCO.
 - **McDonald R. W.** y F. A. McLaughlin, 1982. The effect of storage by freezing on dissolved inorganic phosphate, nitrate and reactive silicate for samples from coastal and estuarine waters. *Water Resource Research*, 29: 95 - 104.
 - **MacFarlane G.R.**, D. J. Booth y K. R. Brown, 2000. The Semaphore crab, *Heloecius cordiformis*: bio-indication potential for heavy metals in estuarine systems. *Aquatic Toxicology*, 50:153-166
 - **Maltby L.**, 1999. Studying stress: The importance of organism-level responses. *Ecological Applications*, 9: 431-440.
 - **Marcovecchio J.**, H. Freije, S. De Marco, M. A. Gavio, L. Ferrer, S. Andrade, O. Beltrame, R. Asteasuain, 2006. Seasonality of hydrographic variables in a coastal lagoon: Mar Chiquita, Argentina. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 16: 335-347.
 - **Marcovecchio J. y L. Ferrer**, 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 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* N°170: 67 pp.
 - **Margalef R.**, 1980. *Ecología*. Omega (ed.), Barcelona: 21 - 22.
 - **Marín-Guirao L.**, A. César, A. Marín, J. Lloret y R. Vita, 2005a. Establishing the ecological quality status of soft-bottom mining-impacted coastal water bodies in the scope of the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 374-387.
 - **Marín-Guirao L.**, A. Marín, J. Lloret, E. Martínez y J. García, 2005b. Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: metal accumulation and

- bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Marine environmental Research*, 60: 317-337.
- **Marsh H.** y F. Rodríguez-Reinoso (eds), 2006. Applicability of activated carbon. In: Activated Carbon, Elsevier Ed., Chapter 8: 383-453.
 - **Martin J. M.**, W. W. Huang y Y. Y. Yoon, 1994. Levels and fate of trace metals in the lagoon of Venice (Italy). *Marine Chemistry*, 46: 371-386.
 - **Martín-Díaz L. M.**, A. Villena-Lincoln, S. Bamber, J. Blasco y T. Á. Del Valls, 2005. An integrated approach using bioaccumulation and biomarker measurements in female shore crab, *Carcinus maenas*. *Chemosphere*, 58: 615-626.
 - **Martinetto P.**, 2001. Efecto de los cangrejos de *Chasmagnathus granulata* sobre el uso del intermareal por otros cangrejos, peces y zooplancton. Tesis de Licenciatura, FCEyN, UNMdP, 47 pp.
 - **Martos, P. y R. Reta**, 1997. Aspectos hidrográficos de la región estuarial de la laguna de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires. *II Congreso Argentino de Limnología - I Reunión de Sistemas Costeros Mixohalinos*, Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Buenos Aires (Argentina).
 - **Mendiguchía C.**, C. Moreno y M. García-Vargas, 2007. Evaluation of natural and anthropogenic influences on the Guadalquivir River (Spain) by dissolved heavy metals and nutrients. *Chemosphere*, 69: 1509-1517
 - **Menni R.**, 1983. Los Peces en el medio marino. Ed. Estudio Sigma S. R. L., Buenos Aires. 169 pp.
 - **Menone M.**, A. Bortolus, F. Botto, J. Aizpun, J. Moreno, O. Iribarne, T. L. Metcalfe y C. D. Metcalfe, 2000. Organochlorine contaminants in a coastal lagoon in Argentina: Analysis of sediments, crabs and cordgrass from two different habitats. *Estuaries*, 23: 583-592.
 - **Micó C.**, L. Recatalá, M. Peris y J. Sánchez, 2006. Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere*, 65: 863-872.
 - **Monbet Y.**, 1992. Control of phytoplankton biomass in estuaries: a comparative analysis of microtidal and macrotidal estuaries. *Estuaries*, 15 (4): 563- 571.

-
- **Montserrat J. M.**, E. M. Rodríguez y M. Ansaldo, 1994. Effects of parathion on ion and water balance in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, grapsidae). *Nauplius* (Río Grande), 2: 87-97.
 - **Moran S.B.**, P. A. Yeats y P. W. Balls, 1996. On the role of colloids in trace metal solid-solution partitioning in continental shelf waters: a comparison of model results and field data. *Continental Shelf Research*, 16: 397- 408.
 - **Moriarty F.**, 1983. Ecotoxicology the study of pollutants in ecosystems, Academic Press, London, pp 233.
 - **Morillo J.**, J. Usero y I. Gracia, 2005. Biomonitoring of trace metals in a mine-polluted estuarine system (Spain). *Chemosphere*, 58: 1421-1430.
 - **Mukhopadhyay S.K.**, H. Biswas y T.K. De Jana, 2006. Fluxes of nutrients from the tropical River Hooghly at the land-ocean boundary of Sundarbans, NE Coast of Bay of Bengal, India. *Journal of Marine Systems*, 62: 9-21.
 - **Munkitrikk K. R.** y L. S. McCarty, 1995. An integrated approach to aquatic ecosystem health: top-down, bottom-up or middle-out? *Journal of Aquatic Ecosystem*, 4: 77-90.
 - **Murphy J.** y J. P. Riley, 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chemica Acta*, 27: 31 - 36.
 - **Nedwell D.B.**, A. S. Sage y G. J. C. Underwood, 2002. Rapid assessment of macro algal cover on intertidal sediments in a nutrified estuary. *Science of the Total Environment*, 285: 97-105.
 - **Odendaal J.P.** y A. J. Reinecke, 1999. The toxicity of sublethal lead concentrations for the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda). *Biology and Fertility of Soils*, 29: 149-151.
 - **Olivier S.R.**, A. Escofet, P. Penchaszadeh y J. M. Orensanz, 1972. Estudios ecológicos de la región estuarial de Mar Chiquita (Buenos Aires, Argentina). Las comunidades bentónicas. *Anales de la Sociedad Científica Argentina*, 93: 237-262.

-
- **Páez-Osuna F., M. G. Frias-Espericueta** y J. I. Osuna-López, 1995. Trace metal concentrations in relation to season and gonadal maturation in the oyster *Crassostrea iridescens*. *Marine Environmental Research*, 40 (1): 19-31.
 - **Pandian T.J.**, 1970a. Ecophysiological studies on the developing eggs and embryos of the European lobster *Homarus gammarus*. *Marine Biology*, 5: 154-167.
 - **Pandian T.J.**, 1970b. Yolk utilization and hatching time in the Canadian lobster *Homarus americanus*. *Marine Biology*, 7: 249-254.
 - **Pastor A., J. Medina, J. Del Ramo, A. Torreblanca, J. Diaz-Mayans y F. Hernandez**, 1988. Determination in different tissues. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 41: 412- 8.
 - **Perillo G. M. E.**, 1995. Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. Chapter 2. En: Perillo, G. M. E. (Ed.), *Geomorphology and Sedimentology of Estuaries*. Developments in Sedimentology 53, Elsevier Science: 17 - 47.
 - **Perillo, G.M.E; Gomez E.; Aliotta S. y Galíndez D., 1984**. Programa Fortran para análisis estadístico y gráfico de muestras de sedimentos inconsolidados. Inf. Tec. N°3 del I.A.D.O.
 - **Pestana J. L. T., A. Re´, A. J. A. Nogueira y A. M. V. M. Soares**, 2007. Effects of Cadmium and Zinc on the feeding behaviour of two freshwater crustaceans: *Atyaephyra desmarestii* (Decapoda) and *Echinogammarus meridionalis* (Amphipoda). *Chemosphere*, 68: 1556-1562
 - **Petersen S. y K. Anger**, 1997. Chemical and physiological changes during the embryonic development of the spider crab, *Hyas araneus* L. (Decapoda: Majidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 117: 299-306.
 - **Phillips D. J. H. y P. S. Rainbow**, 1994. Biomonitoring of trace aquatic contaminants, Second edition. Chapman & Hall, London. 371 pp.
 - **Phillips D. J. H. y P. S. Rainbow**, 1993. Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Elsevier Science, London.
 - **Phleger F. B.**, 1976. Some general features of coastal lagoon. In: Ayala-Castaneras A. (ed.) *Lagunas costeras*. Universidad Nacional Autónoma de México. México. DF. pp 5-26.

-
- **Piccolo, M.C.** y G.M.E. Perillo, 1999. The Argentina Estuaries: A review. In: Perillo, G.M.E., M.C. Piccolo & M. Pino Quivira (eds.), *Estuaries of South America: their geomorphology and dynamics*, Environmental Science Series, Springer-Verlag, Berlin, cap. 6, 101-132.
 - **Piccolo M. C.**, G. M. E. Perillo, P. Martos y R. Reta, 1995. Balance energético en la playa de la Laguna Mar Chiquita, Buenos Aires, Argentina. VI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Mar del Plata. Argentina.
 - **Ponce-Vélez G.** y A. V. Botello, 1991. Aspectos geoquímicos y de contaminación por metales pesados en la laguna de Términos, Campeche. *Hidrobiológica*, 1(2): 1-10.
 - **Powell M. I.** y K. M. White, 1990 Heavy metal accumulation by barnacles and its implications for their use as biological monitors. *Marine Environmental Research*, 30: 91-118.
 - **Prohaska F.**, 1976. The climate of Argentina, Paraguay and Uruguay. In: Schwedtfeger, W. (ed), *Climates of Central and South America, World Survey of Climatology*, vol 12. Elsevier, New York, pp. 13-112.
 - **Rabouille C.**, F. T. Mackenzi y L. May Ver, 2001. Influence of the human perturbation on carbon, nitrogen, and oxygen biogeochemical cycles in the global coastal ocean. *Geochímica and Cosmochímica Acta*, 65 (21): 3615 – 3641.
 - **Rainbow P. S.**, 2007. Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environment International*, 33: 576-582.
 - **Rainbow P. S.**, 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120: 497–507.
 - **Rainbow P.S.**, 1998. Phylogeny of trace metal accumulation in crustaceans. In: Langston, W.J., Bebianno, M. (Eds.), *Metal Metabolism in Aquatic Environments*. Chapman & Hall, London, pp. 285– 319.
 - **Rainbow P.S.**, 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 44: 169–175.
 - **Rainbow P. S.**, 1995a. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 183–192.

-
- **Rainbow P.S.**, 1995b. Physiology, physiochemistry and metal uptake – a crustacean perspective. *Marine Pollution Bulletin*, 31 (1-3): 55–59.
 - **Rainbow P.S.**, 1993. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates. In: Dallinger, R., Rainbow, P.S. (Eds.), *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates*. Lewis Publishers, Chelsea, 3 –23.
 - **Rainbow P.S.**, W. Fialkowski, A. Sokolowski, B. D. Smith y M. Wolowicz, 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.
 - **Rainbow P.S.**, C. Amiard-Triquet, J. C. Amiard, B. D. Smith, S. L. Best, Y. Nassiri, y W. J. Langston, 1999. Trace metal uptake rates in crustaceans (amphipods and crabs) from coastal sites in NW Europe differentially enriched with trace metals. *Marine Ecology Progress Series*, 183: 189– 203.
 - **Rainbow E S.** y S. L. White, 1990. Comparative accumulation of cobalt by three crustaceans: a decapod, an amphipod and a barnacle. *Aquatic Toxicology*, 16: 113-126.
 - **Rainbow P.S.** y S. L. White, 1989. Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: zinc, copper and cadmium in a decapod, an amphipod and a barnacle. *Hydrobiologia*, 174: 245– 262.
 - **Reddy P.S.**, L. K. Nguyen, P. Obih y M. Fingerman, 1997. Effect of cadmium chloride on the distal retinal pigment cells of the fiddler crab, *Uca pugilator*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 504-510.
 - **Redfield A.C.**, 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American Science*, 46: 205–221.
 - **Rimski-Korsakov H.**, G. Rubio y R. S. Lavado, 2004. Potential nitrate losses under different agricultural practices in the pampas region, Argentina. *Agriculture Water Manage*, 65: 83-94.
 - **Roast S.D.**, J. Widdows y M. B. Jones, 2001. Impairment of mysid (*Neomysis integer*) swimming ability: an environmentally realistic assessment of the impact of cadmium exposure. *Aquatic Toxicology*, 52: 217–227.

-
- **Reta R.**, P. Martos, G. M. E. Perillo, M. C. Piccolo y A. Ferrante, 2001. Características hidrográficas del estuario de la laguna Mar Chiquita. En: Iribarne O. (ed.). *Reserva de Biosfera Mar Chiquita. Características físicas, biológicas y ecológicas*. Universidad Nacional de Mar del Plata, Editorial Martín, Mar del Plata, pp. 31-52.
 - **Reta R.**, P. Martos, A. Ferrante, G.M.E. Perillo y M.C. Piccolo, 1995. Efectos de mareas y viento sobre temperatura y salinidad en la laguna Mar Chiquita, Argentina. *VI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar*, Mar del Plata, Argentina.
 - **Richards F.A.** y R. A. Kletsch, 1964. The spectrophotometric determination of ammonia and labile amino compounds in fresh and sea water by oxidation to nitrite. Reprinted from *Recent reseaches in the Fields of Hydrosphère, Atmosphère and Nuclear geochemistry*, pp. 65 - 81.
 - **Richardson K.** y B. B. Jørgensen, 1996. 1 Eutrophication: Definition, History and Effects. In: Jørgensen, B. B. and Richardson, K. (eds.), *Coastal and Estuaries Studies: Eutrophication in Coastal Marine Ecosystems*. American Geophysical Unin, Washington, DC, pp. 1-19.
 - **Rocha C.**, H. Galvão y A. Barbosa, 2002. Role of transient silicon limitation in the development of cyanobacteria blooms in the Guadiana estuary, south-western Iberia. *Marine Ecology Progress Series*, 228: 35-45.
 - **Rodríguez C.A.**, K. W. Flessa y D. L. Dettman, 2001. Effects of upstream diversion of Colorado River water on the Estuarine Bivalve Mollusc *Mulinia coloradoensis*. *Conservation Biology*, 15: 249-258.
 - **Rodríguez E. M.**, D. A. Medesani y M. Fingerman, 2007. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: A review. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A, 146: 661-671.
 - **Rodríguez E. M.**, L. S. López Greco y M. Fingerman, 2000. Inhibition of Ovarian Growth by Cadmium in the Fiddler *Uca pugilator* (Decapoda, Ocypodidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46: 202-206.
 - **Rodríguez E. M.**, J. Monserrat, D. Medesani, R. Bigi, P. Rodríguez Moreno, L. López, V. Stella, C. Cervino y M. Ansaldo, 1998. *Efectos letales y subletales de*

- plaguicidas y metales pesados en cangrejos de estuario*. Revisión de una década de investigaciones. MACN. Nueva Serie - Ecotoxicología, Stadler T. (ed.) 150: 1-17.
- **Rodríguez E. M.** y D. Medesani, 1994. Pathological lesions in larvae hatched from ovigerous females of *Chasmagnathus granulata* exposed to cadmium. *Experiencia*, 50: 975-977.
 - **Rodríguez E. M.**, J. M. Monserrat y O. Amín, 1992. Chronic toxicity of ethyl parathion and isotoxyethanol ester of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid to estuarine juvenile and adult crabs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22: 140-145.
 - **Rodríguez E. M.** y O. Amín, 1991. Acute Toxicity of parathion and 2, 4-D to larval and juvenile stages of *Chasmagnathus granulatus* (Decapoda, Brachyura). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 47: 634-640.
 - **Rodríguez Moreno P. A.**, D. A. Medesani y E. M. Rodríguez, 2003. Inhibition of molting by cadmium in the crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda Brachyura). *Aquatic Toxicology*, 64: 155-164.
 - **Saigusa M.**, 2002. Hatching controlled by the circatidal clock, and the role of the medulla terminalis in the optic peduncle of the eyestalk, in an estuarine crab *Sesarma haematocheir*. *Journal of Experimental Biology*, 205: 3487-3504.
 - **Salomons W.** y U. Förstner, 1984. *Metals in the hydrocycle*. Springer-Verlag Ed., Heidelberg (Germany), pp. 337
 - **Sánchez M. V.**, A. V. Cahansky, L. S. López Greco y E. Rodríguez, 2005. Toxicity of mercury during the embryonic development of *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura, Varunidae). *Environmental Research*, 99 (1): 72-78.
 - **Santos M. H. S.**, N. T. da Cunha y A. Bianchini, 2000. Effects of copper and zinc on growth, feeding and oxygen consumption of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae (Decapoda: Penaeidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 247: 233-242
 - **Sastre M.P.**, P. Reyes, H. Ramos, R. Romero y J. Rivera, 1999. Heavy metal bioaccumulation in Puerto Rican Blue Crabs (*Callinectes spp.*). *Bulletin of Marine Science*, 64(2): 209- 17.

-
- **Shiller A.M.**, 1997. Dissolved trace elements in Mississippi River: seasonal, interannual, and decadal variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61: 4321–4330.
 - **Shimshock N.**, G. Sennefelder, M. Dueker, F. Thurberg y Yarish, 1992. Patterns of metal accumulation in *Laminaria longicruris* from Long Island Sound (Connecticut). *Archives of Environmental of Contamination and Toxicology*, 22: 305-312.
 - **Skliris N.** y A. Lascaratos, 2004. Impacts of the Nile River damming on the thermohaline circulation and water mass characteristics of the Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, 52: 121–143.
 - **Smayda T. J.**, 1992. Chapter 4: The phytoplankton of the estuaries. En: Ketchum (ed.), *Ecosystems of the world 26*, Estuaries and enclosed seas. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands, pp. 65 – 102.
 - **Smayda T. J.**, 1978. Estimating cell numbers. En: Sournia, A. (Ed.), *Phytoplankton manual*, Muséum National d’Histoire Naturelle, Paris. UNESCO: 165 – 180.
 - **Smith, E. G.**, A. J. Ritar, C. G. Carte, G. A. Dunstan y M. R. Brown, 2003. Morphological and biochemical characteristics of phyllosoma after photothermal manipulation of reproduction in broodstock of the spiny lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture*, 220: 299– 311.
 - **Soegianto A.**, M. Charmantier-Daures, J. P. Trilles y G. Charmantier, 1999. Impact of cadmium on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Aquatic Living Resources*, 12 (1): 57–70.
 - **Spetter C. V.**, 2006. Ciclo biogeoquímico de nutrientes inorgánicos de nitrógeno en los humedales del estuario de Bahía Blanca. *Tesis Doctoral*. Universidad Nacional del sur, Bahía Blanca, Argentina. 146 pp.
 - **Spivak E.**, 1997. Cangrejos estuariales del Atlántico sudoccidental (25° – 41°S) (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Investigaciones Marinas Valparaíso*, 25: 105–120.
 - **Spivak E.**, K. Anger, T. Luppi, C. Bas y D. Ismael, 1994. Distribution and habitat preferences of two grapsid crab species in Mar Chiquita Lagoon (Province of Buenos Aires, Argentina). *Helgoländer Meeresunters*, 48: 59-78.

-
- **Strahler, A.N. 1981.** *Geografía Física*, Ed. Omega S.A., Barcelona, 767 pp.
 - **Strathmann R. R.,** 1982. Selection for retention or export of larvae in estuaries. In: Kennedy, V. S. (Ed.) *Estuarine comparisons*. Academic Press, New York (USA), 521-535.
 - **Strickland J. D. y T. R. Parsons,** 1968. Determination of Particulate Organic Carbon. En: Strickland, J.D; Parsons, T. R. (Eds.) *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, Bulletin 167, Fisheries Research Board of Canada, Ottawa: 207 - 211.
 - **Sunda W. G.,** 1989. Trace metal interactions with marine phyto-plankton. *Biology of Oceanography*, 6: 411-442.
 - **Syvitski J.P.M.,** C. J. Vorosmarty, A. J Kettner y P. Green, 2005. Impact of humans on the flux of terrestrial sediment to the global Coastal Ocean. *Science*, 308: 376-380.
 - **Taylor D.I.,** S. W. Nixon, S.L. Granger y B. A. Buckley, 1999. Responses of coastal lagoon plant communities to levels of nutrient enrichment: a mesocosm study. *Estuaries*, 22: 1041-1056.
 - Technicon Autoanalyzer II®. 1973. Industrial Methods N° 186-72 W/B.
 - **Treguer P.** y P. Le Corre, 1975a. Analyse des sels nutritifs sur autoanalyzer II. *Manuel D'Analyse des Sels Nutritifs dans L'Eau de Mer*, Univ. Bretagne Occidentale, France, pp 11-22.
 - **Treguer P.** y P. Le Corre, 1975b. Analyse des sels nutritifs sur autoanalyzer II. Methods Richards et Kletsh (modifiée). *Manuel D'Analyse des Sels Nutritifs dans L'Eau de Mer*, Univ. Bretagne Occidentale, France, pp 50-61.
 - **Turner A.,** 1996. Trace-metal partitioning in estuaries: importance of salinity and particle concentration. *Marine Chemistry*, 54: 27-39.
 - **Turner R.E.,** N. N. Rabalais y Z. Zhang, 1990. Phytoplankton biomass, production and growth limitations on the Huanghe River (Yellow River) continental shelf. *Continental Shelf Research*, 10: 545-571.
 - **van der Berg C.M.G.,** 1993. Complex formation and the chemistry of selected trace elements in estuaries. *Estuaries*, 16: 512-520.

-
- **Vazquez G. F.**, V. K Sharma, V. R. Magallanes y A. J. Marmolejo, 1999. Heavy Metals in a Coastal Lagoon of the Gulf of Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 38 (6): 479-485.
 - **Vazquez G.F.**, R.A. Diaz, y L.G. Salvador, 1998. Dissolved metals in Alvarado lagoon, México. *Environmental International*, 24 (7): 721-727.
 - **Verslycke T.**, A. Ghekiere, S. Raimondo y C. R. Janssen, 2006. Mysid crustaceans as test models for the screening and testing of endocrine-disrupting chemicals. Ecotoxicology-Special issue on Endocrine Disruption in invertebrates. DOI: 10.1007/s10646-006-0122-0
 - **Viaroli P.**, P. Laserre y P. Campostrini, 2007. Lagoons and coastal wetlands. *Hidrobiología*, 577: 1-3.
 - **Wang W. X.**, N. S., Fisher y S. N. Luoma, 1996a. Kinetic determinations of trace metal bioaccumulation in the mussel *Mitilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 140: 91-113.
 - **Wang W. X.**, J. R. Reinfelder, B. G. Lee y N. S. Fisher, 1996b. Assimilation and regeneration of trace metal by marine copepods. *Limnology and Oceanography*, 41, 70-81.
 - **Wang Z-L** y C-K Liu, 2003. Distribution and partition behavior of heavy metals between dissolved and acid-soluble fractions along a salinity gradient in the Changjiang Estuary, eastern China. *Chemical Geology*, 202: 383- 396
 - **Wen L.**, K. Jiann y K. Liu, 2008. Seasonal variation and flux of dissolved nutrients in the Danshuei Estuary, Taiwan: A hypoxic subtropical mountain river. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 78: 694-704.
 - **White D.L.**, D.E. Porter y A.J. Lewitus, 2004. Spatial and temporal analyses of water quality and phytoplankton biomass in an urbanized versus a relatively pristine salt marsh estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 298: 255- 273.
 - **Wilber D.H.** y R. Bass, 1998. Effect of the Colorado River Diversion on Matagorda Bay Epifauna. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47: 309-318.
 - **Wilson J. G.**, Halcrow, W. (eds), 1985. Estuarine Management and Quality Assessment. Plenum Press, New York and London, pp 225.

-
- Windsor J., 1985. *Nationwide review of oxygen depletion and eutrophication in estuarine and coastal waters*. NOAA/OAD. Rockville, Maryland, 177 pp.
 - Wright D. A., 1995. Trace metal and major ion interactions in aquatic animals. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 8 - 18.
 - Wright, D. A. y P. Welbourn, 2002. *Environmental toxicology*. Cambridge environmental chemistry series. Cambridge University Press. 630 pp.
 - Wu J. P. y H. Chen, H., 2004. Effects of cadmium and zinc on oxygen consumption, ammonium excretion, and osmoregulation of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Chemosphere*, 57: 1591-1598.
 - Xu J., A. Y. T. Ho, K. Yin, X. Yuan, D. M. Anderson, J. H.W. Lee, P. J. Harrison, 2008. Temporal and spatial variations in nutrient stoichiometry and regulation of phytoplankton biomass in Hong Kong waters: Influence of the Pearl River outflow and sewage inputs. *Marine Pollution Bulletin*, doi:10.1016/j.marpolbul.2008.01.020
 - Zapata V., L. S. López Greco E. M. Rodríguez, 2001. Effect of copper on hatching and development of larvae of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 1579-1583.
 - Zar J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*, 4th ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, USA, 435 pp.
 - Zeitzschel B., 1978. Why study phytoplankton? En: Sournia, A. (Ed.) *Phytoplankton manual*, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris. UNESCO: 1 -5.
 - Zhou J.L., Y. P. Liu y P. W. Abrahams, 2003. Trace metal in the Conway estuary, North Wales. *Chemosphere*, 51: 429-440.
 - Zou L., J. Zhang, W. Pan y Y. Zhan, 2002. In situ nutrient enrichment experiment in the Bohai and Yellow Sea. *Journal of Plankton Research*, 23: 1111-1119.
 - Zwolsman J. J. G. y G.T.M. van Eck, 1999. Geochemistry of major elements and trace metals in suspended matter of the Scheldt estuary, southwest Netherlands. *Marine Chemistry*, 66: 91-111
 - Zwolsman J. J. G., B. T. M. Van Eck y C. H. Weijden, C. H., 1997. Geochemistry of dissolved trace metals (cadmium, copper, zinc) in the Scheldt estuary,

southwestern Netherlands: impact of seasonal variability. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61: 1635-1652.