



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Tesis Doctor en Biología

**El ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en el
Estuario de Bahía Blanca: Estudio de la biología
reproductiva, uso del hábitat y el potencial
condicionamiento ambiental como consecuencia del
impacto antrópico**

Lic. Pía Simonetti

BAHÍA BLANCA


ARGENTINA

2012

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 por medio de estudios de campo y en el laboratorio del 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 13 de noviembre de 2007 y el 5 de diciembre de 2011, bajo la dirección del Doctor Jorge Eduardo Marcovecchio, investigador independiente del CONICET y la directora asistente Dra. Sandra Marcela Fiori, investigadora adjunta del CONICET.

Lic. Pía Simonetti

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Secretaría General de Posgrado y Educación Continua</p> <p>La presente tesis ha sido aprobada el .../.../..... , mereciendo la calificación de(.....)</p>
---	---

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis Dr. Jorge E. Marcovecchio y Dra. Sandra M. Fiori por la oportunidad que me brindaron, la dirección y el apoyo necesario para la realización de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y al Instituto Argentino de Oceanografía (IADO) por haberme permitido la realización del doctorado.

Al personal del laboratorio de Química Marina del IADO por la gran ayuda brindada, especialmente a Nedda Chiarello, Javier Arlenghi, Raúl Asteasuain y Fabián García por la buena predisposición y desinteresada colaboración.

A Sandra Botté muy especialmente, por estar siempre dispuesta a brindarme su apoyo y por responder a mis inacabables consultas. Sin su ayuda este proyecto no habría sido el mismo.

A Martín Sotelo, Lucrecia Díaz y los voluntarios de la Reserva, por su gran ayuda en las campañas del Islote. Su colaboración fue esencial para que estas campañas pudieran llevarse a cabo.

A Hugo Pellegrini, Eder dos Santos y Beto Conte, por su gran colaboración en mis campañas y a Walter Melo por su gran ayuda con los mapas.

A todo el personal que forma parte del IADO, quienes de alguna u otra manera hicieron posible este trabajo.

A Lucas Verniere, Rodolfo Sarría, Eugenia Nahuelhual y Magalí Verolo por su colaboración en el trabajo de campo.

A Luciano La Sala y Pablo Petracci, por haberme ayudado tantas veces a través de su experiencia con aves.

A Pablo Yorio y Silvina Bachmann por haber respondido tantas veces a mis consultas. Sus palabras siempre fueron de mucha ayuda para mi proyecto.

A mis compañeras del IADO, Melisa, Clara, Florencia, Anabela, Sofía, Celeste, Vanesa, Valeria, por haber sido un gran apoyo en todo momento, ya sea emocional o intelectual.

A mis grandes amigas del alma, Maru, Maca y Marian, porque a pesar de la distancia siempre estuvieron y están para darme su apoyo incondicional.

A mi familia, toda, por brindarme siempre su afecto y su contención desde la distancia.

A mi amor Juan, que con su infinita paciencia y su maravilloso carácter supo soportar mi malhumor, nervios, angustias y alegrías a lo largo de todos estos años.

A mis hermosas hijas Vera y Catalina, que son lo más maravilloso que me dio la vida.

Y muy, muy especialmente a Pino, porque además de haberme brindado siempre todo su amor, a nivel académico no sería la misma persona si él no hubiera estado en mi vida. La culminación de este proyecto se debe en gran medida a su inmenso y constante apoyo.

A Pino

A mis tres amores: Juan, Vera y Catalina

RESUMEN

Este estudio aborda la caracterización de las poblaciones del ostrero pardo (*Haematopus palliatus*) en la zona interna y media del estuario de Bahía Blanca estableciendo sobre éstas el potencial condicionamiento ambiental como consecuencia del impacto antrópico producido en la región. Entre septiembre y diciembre de 2008 y 2009 se llevaron a cabo los estudios biológicos sobre las poblaciones de ostreros. Paralelamente se llevaron a cabo muestreos bimestrales de dos invertebrados marinos *ítems* presa del ostrero en los mismos sitios de estudio, a los cuales se les midieron las concentraciones de algunos metales pesados potencialmente tóxicos. A su vez fueron recolectados algunos huevos de ostreros a los cuales también se les determinó la concentración de estos mismos metales.

Respecto de las poblaciones de ostreros, se halló una sincronía en la puesta de huevos en los tres sitios de estudio y en los dos años de muestreo. El número y la densidad de parejas y de nidos fue superior en el Islote del Puerto que en el Continente (Villa del Mar y Puerto Cuatreros). El tamaño de la puesta rondó entre uno y tres huevos (moda igual a dos) en los tres sitios, siendo el Islote del Puerto el único sitio que presentó nidos con tres huevos. El largo y el volumen medio resultaron mayores en los huevos del Continente que en los del Islote. El diámetro del nido resultó similar tanto en el Islote como en el Continente. Los nidos del Islote se ubicaron preferentemente cerca de la línea de marea de tormenta mientras que los del Continente se ubicaron mayormente en una posición intermedia. Los

nidos del Islote presentaron en su mayoría un grado de cobertura vegetal de más del 75% del área, frente a una cobertura de entre 25 y 50% para la mayor parte de los nidos del Continente. La presencia de otras especies nidificantes coloniales en el Islote, las cuales son potenciales depredadores, podría explicar el mayor grado de cobertura vegetal y la mayor cercanía a la línea de marea de tormenta como medida de protección de los huevos a eventuales ataques, denotando una cierta flexibilidad en el comportamiento de esta especie como mecanismo de escape frente a la depredación. La elaboración de los nidos resultó similar para los nidos del Islote y Continente. Se pudo establecer que la presencia humana como elemento del impacto antrópico es un factor determinante en la variabilidad de la densidad de parejas y nidos respecto a la posición en el estuario de Bahía Blanca.

Las concentraciones de los seis metales halladas tanto en cangrejos (tejido blando y huevos) como en poliquetos no presentaron diferencias significativas entre Villa del Mar y Puerto Cuatrerros reforzando la decisión de unir, en el Capítulo I, ambos sitios formando Continente. Se hallaron niveles detectables de cobre, cadmio y zinc en cangrejos (tejido blando y huevos) y poliquetos. Los niveles de níquel, plomo y cromo fueron detectables únicamente en cangrejos (tejido blando). Los huevos de cangrejos presentaron concentraciones de cobre, cadmio, níquel y zinc por encima del límite de detección en primavera y verano y en los tres sitios; el plomo fue detectado solamente en primavera de Villa del Mar y Puerto Cuatrerros y el cromo fue no detectable en ambas estaciones y los tres sitios.

A excepción del zinc, las concentraciones de los metales halladas en huevos fueron inferiores a las detectadas en hembras. Para el caso del cobre las hembras presentaron concentraciones dos órdenes de magnitud mayores, lo que estaría asociado con el aumento de la concentración de hemocianina en los adultos. Se hallaron niveles detectables en los seis metales analizados en las cáscaras de huevos de ostreros. La presencia de metales pesados tanto en los eslabones inferiores (cangrejos y poliquetos) como los superiores (huevos del ostrero) sugiere que los metales que se encuentran biodisponibles en el ambiente son transferidos a las poblaciones del ostrero pardo del estuario de Bahía Blanca a través de las cadenas tróficas.

La realización de este trabajo permitió obtener resultados muy valiosos respecto de la biología del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en el estuario de Bahía Blanca, siendo este estudio el primero llevado a cabo en la región. Por otra parte por primera vez se analizaron, en forma simultánea, los niveles de metales pesados en distintos eslabones de la cadena trófica. Cabe destacar que los resultados obtenidos para metales en poliquetos son el primer antecedente para la zona media e interna del estuario de Bahía Blanca.

ABSTRACT

This study approaches the characterization of American oystercatcher (*Haematopus palliatus*) populations in the inner and middle zone of the Bahía Blanca estuary, establishing on these the potential environmental conditioning as a consequence of the antropic impact produced in the region. Between September and December 2008 and 2009, biological studies were carried out on the populations of the American oystercatcher. Parallel there were carried out two-monthly samplings of two marine invertebrates prey items of the American oystercatcher in the same study sites, in which the concentrations of some potentially toxic heavy metals were measured. Also there were gathered some eggs of American oystercatchers in which the concentration of the same metals was also measured.

Respect of the American oystercatcher populations, a synchrony on laying dates in the three study sites and in the two years of sampling was found. The number and density of pairs and nests were superior in the Island that in the Continent (Villa del Mar and Puerto Cuatreros). The size of the clutch was between one and three eggs (equal mode to two) in three sites, being the Island the only site that had nests with three eggs. The length and the average volume turned out to be major in the eggs of the Continent that in those of the Island. The diameter of the nest turned out to be similar both in the Island and in the Continent. The nests of the Island were located preferably near the line of tide of storm whereas those of the Continent were located mainly in an intermediate position. The majority of

the nests in the Island presented a degree of vegetable coverage of more than 75% of the area, opposite to coverage of between 25 and 50% for most of the nests of the Continent. The presence of other colonial nesting species in the Island, which may be potentials predators, it might make clear the major degree of vegetable coverage and the major nearness to the line of tide of storm as protection measure of the eggs to eventual assaults, denoting a certain flexibility in the behavior of this species as mechanism of escape opposite to the depredation. The elaboration of the nests turned out to be similar for the nests of the Island and Continent. It was possible to establish that the human presence, as an element of the antropic impact, it is a determinant factor in the variability of the density of pairs and nests with regard to the position in the Bahía Blanca estuary.

The concentrations of six metals found not only in crabs (soft tissues and eggs) but in polychaetes also, did not present significant differences between Villa del Mar and Puerto Cuatreros reinforcing the decision to join, in the Chapter I, both sites forming Continent. There were found detectable levels of copper, cadmium and zinc in crabs (soft tissues and eggs) and polychaetes. The levels of nickel, lead and chromium were detectable only in crabs (soft tissues). The crab eggs presented concentrations of copper, cadmium, nickel and zinc over the detection limit in spring and summer and in the three sites; lead was detected only in spring of Villa del Mar and Puerto Cuatreros, and chromium was not detectable on both stations and in the three sites. With the exception of zinc, the concentrations of the metals found in eggs were lower than the detected ones in females. For the case of

copper the females showed concentrations two major orders of magnitude, which would be associated with the increase of the concentration of hemocianine in the adults. There were found detectable levels in the six metals measured in the eggshells of American oystercatchers. The presence of heavy metals so much in the low links (crabs and polychaetes) as the superiors (eggshells of the American oystercatchers) suggests that the metals which are bioavailable in the environment are transferred to the populations of the American oystercatchers of the Bahía Blanca estuary across the trophic chains.

The accomplishment of this work allowed obtaining very valuable results respect of the biology of the American oystercatcher, *Haematopus palliatus*, in the Bahía Blanca estuary, being this study the first one carried out in the region. On the other hand by the first time there were analyzed, in simultaneous form, the levels of heavy metals in different links of the trophic chain. It is necessary to emphasize that the results obtained for metals in polychaetes are the first precedent for the inner and middle zone of the Bahía Blanca estuary.

ÍNDICE

PREFACIO.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	X
ÍNDICE.....	XIII

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	5
ÁREA DE ESTUDIO.....	7

CAPÍTULO 1: *Estudio de la biología reproductiva y selección de*

*sitios de nidificación del ostrero pardo *Haematopus palliatus**

I. INTRODUCCIÓN.....	19
II. ANTECEDENTES.....	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
IV. RESULTADOS.....	28
V. DISCUSIÓN.....	40

CAPÍTULO 2: *Estudio del potencial condicionamiento ambiental*

sobre las poblaciones del ostrero pardo

I. INTRODUCCIÓN.....	47
II. ANTECEDENTES.....	50
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	52

a. Obtención de los organismos.....	53
b. Acondicionamiento del material de trabajo.....	57
c. Determinación analítica de metales pesados en invertebrados bentónicos y cáscaras de huevo de ostreros.....	57
IV. RESULTADOS.....	65
V. DISCUSIÓN.....	94
CONCLUSIONES GENERALES.....	112
BIBLIOGRAFÍA.....	118

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los estuarios, incluyendo las áreas de humedales costeros que los integran, se cuentan entre los ecosistemas más productivos del planeta, son importantes reservorios de biodiversidad, y brindan significativos beneficios económicos y sociales, que pueden ser descritos en términos de recursos, funciones y atributos (Costanza et al. 1997, Canevari et al. 1999). Estos ecosistemas son áreas de nidificación, reposo y alimentación de aves migratorias y residentes (Goss-Custard 1985, Castro y Myers 1993, Blanco 1999, Warnock et al. 2002). A su vez, la presencia de una abundante biomasa fito y zooplanctónica actúa como fuente de alimento para otros invertebrados y peces de interés comercial que utilizan estas zonas para reproducción, desove y rutas de migración (Kennish 1991, 1997; Canevari et al. 1999; Marcus 2004). Por otra parte son fuentes, sumideros y transformadores de una multitud de materiales químicos y recursos biológicos y genéticos.

Se considera que la mitad de los humedales del mundo se han perdido durante el siglo XX, como consecuencia directa de la actividad antrópica. Las actuales tendencias demográficas y dinámicas socioeconómicas llevan a la degradación, fragmentación y desaparición de estos ambientes (Gray 1997). Las tendencias sugieren que para 2025 los estuarios serán uno de los ambientes costeros más impactados por la pérdida y alteración de hábitat debido al aumento de la población humana costera (Kennish 2002).

El desarrollo económico y demográfico de las regiones costeras, reflejado en el incremento de asentamientos urbanos residenciales, industriales y portuarios, genera una gran cantidad de desechos potencialmente contaminantes que son descargados en las aguas. Los desechos, tanto domésticos como industriales, introducen cerca de un millón de diferentes tipos de compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos, a las aguas (Förstner y Wittmann 1983). La USEPA (United States Environmental Protection Agency) ha identificado un grupo de químicos considerados contaminantes de riesgo tanto para la salud como para el ambiente a determinadas concentraciones en el agua. Esta lista incluye compuestos orgánicos, como el cloroformo, el tolueno y otros hidrocarburos aromáticos, y compuestos inorgánicos como los metales pesados (por ejemplo: cromo, plomo, zinc, níquel) (Kucuksezgin 2011).

Los organismos que viven en los ambientes estuariales pueden bioacumular sustancias tanto orgánicas como inorgánicas a lo largo del tiempo. De esta manera, a medida que los niveles en los tejidos de estos elementos aumentan, aparecen riesgos, tanto por efectos letales como subletales (Gochfeld 1997). Para el caso de los metales pesados, si bien algunos de ellos son esenciales para el metabolismo de ciertos organismos (por ejemplo el cobre y el zinc en cangrejos), todos ellos tienen el potencial de causar efectos toxicológicos si se acumulan en exceso (Rainbow 1997).

La importancia del estudio de la contaminación por metales pesados en los ecosistemas acuáticos radica en que estos tienen el potencial de ser

transferidos a través de las cadenas tróficas, comenzando su bioacumulación en los eslabones inferiores, como el fitoplancton, o productores primarios, y alcanzando los eslabones superiores de la cadena, como en aves y peces, en los que puede ocurrir un proceso de biomagnificación (Wang y Rainbow 2008, Zhou et al. 2008). Es necesario entender el destino y efecto de estos químicos para poder establecer la salud de los ecosistemas y para poder proveer de alertas tempranas de cambios en el ambiente los que podrían estar indicando efectos adversos sobre la biodiversidad.

Para el caso de las aves hay evidencias de efectos negativos de los metales sobre éstas. La exposición al cadmio, cromo y plomo está asociada con modificaciones del comportamiento, la disminución de la tasa de crecimiento de los pichones y un menor éxito reproductivo (Burger y Gochfeld 1995a, b; Spahn y Sherry 1999).

Para poder establecer potenciales riesgos asociados al impacto antrópico sobre una determinada especie, en este caso particular, de una especie de ave costera, es necesario conocer en principio los diversos parámetros poblacionales y reproductivos en el área de estudio, así como sobre el tipo de uso del hábitat que lleva adelante. Por este motivo este trabajo se dividió en dos capítulos:

- El **Capítulo I** se concentró en hacer una caracterización de los parámetros poblacionales y reproductivos del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en la zona interna y media del estuario de

Bahía Blanca así como también caracterizar el uso del hábitat durante el período reproductivo.

- El **Capítulo II** se focalizó en la determinación de los niveles de ciertos metales pesados potencialmente tóxicos en *ítems* presa así como también en huevos del ostrero.

HIPÓTESIS

Las actividades antrópicas que se desarrollan en el estuario de Bahía Blanca condicionan a las poblaciones de ostreros que se encuentran de manera permanente en la región. Para sostener esta hipótesis general se plantearon las siguientes subhipótesis:

- La posición, dentro de la zona media e interna del estuario, asociada al impacto antrópico por el desarrollo de actividades humanas, es un factor determinante sobre los parámetros demográficos y reproductivos del ostrero pardo.
- Los metales pesados biodisponibles en el ambiente, provenientes tanto de las condiciones naturales como de origen antrópico, son transferidos a las poblaciones de ostreros a través de las cadenas tróficas.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar las poblaciones del ostrero pardo (*Haematopus palliatus*) en la zona interna y media del estuario de Bahía Blanca y establecer sobre éstas el potencial condicionamiento ambiental como consecuencia del impacto antrópico producido en la región.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar y comparar los parámetros demográficos y reproductivos de las poblaciones de ostreros en las áreas de estudio seleccionadas, asociados al impacto antrópico en la región.

- Determinar la concentración de metales pesados en *ítems* presa del ostrero pardo en los sitios de estudio seleccionados.
- Determinar la concentración de metales pesados en huevos de ostrero.

ÁREA DE ESTUDIO

Características geográficas y físicas

El estuario de Bahía Blanca está ubicado al Sudoeste de la Provincia de Buenos Aires entre los 38°45' y los 39°40' de latitud sur, y entre los 61°45' y los 62°30' de longitud oeste. Puede describirse como un estuario mesomareal de planicie costera, conformado por canales de marea de orientación NO-SE que desembocan en el Canal Principal de Navegación y separan extensas planicies de marea, marismas saladas bajas e islas (Perillo y Piccolo 1991, 1999). Abarca una superficie total de 2300 Km² de los cuales 1150 Km² corresponden a la zona intermareal, 740 Km² al área submareal y 410 Km² al sector de marismas bajas e islas que se encuentran permanentemente emergidas (Perillo y Piccolo 1999, Cuadrado et al. 2004).

Los canales que surcan las planicies de marea se encuentran interconectados formando una densa red. Si bien el Canal Principal es el único con acceso a los puertos, los canales secundarios son usualmente utilizados como rutas de navegación para conectar con los canales mayores (Cuadrado et al. 2004).

El Canal Principal tiene una longitud total de 61 Km, con una variación en el ancho que va desde los 200 m en la cabecera en el Salitral de la Vidriera hasta los 3-4 Km en la boca. A su vez la profundidad media es del orden de 10 m aunque puede variar entre 22 m frente a Pto. Rosales y 3-4 m en la cabecera (Piccolo y Perillo 1997, Perillo y Piccolo 1999). El sector de mayor tráfico de buques de gran calado excede la profundidad mínima de

13.5 m; sin embargo existen zonas del canal que al poseer una menor profundidad que la requerida deben ser mantenidas con tareas de dragado (Cuadrado et al. 2004).

Al estuario se lo divide en tres sectores: exterior, medio e interior. Este último limitado por el continente hacia el oeste y una línea imaginaria desde Pto. Belgrano hasta el medio de la Península Verde (Cuadrado et al. 2004).

Desde el punto de vista físico, la circulación general del estuario está regida por una onda de marea cuasiestacionaria y semidiurna que es la que le brinda la mayor fuente de energía. El rango medio de marea varía entre 2 m en la boca del estuario a 3.3 m en Pto. Ing. White (Piccolo y Perillo 1997). La propagación de la onda está influenciada por la geomorfología del canal, siendo el efecto más común la reflexión de la onda en la cabecera y flancos del canal transformando a la onda inicialmente progresiva en estacionaria. A su vez la energía de la misma se ve reducida por la fricción de las paredes y fondo del canal (Perillo et al. 2001, 2004).

Los vientos predominantes son del NO y N de mayor frecuencia e intensidad que los del S y SO. Los primeros, al ser paralelos a los canales mayores, influyen sobre la circulación y la mezcla vertical de las aguas (Piccolo et al. 1987). La influencia del viento sobre la circulación puede notarse en las olas, ondas de tormenta y variaciones en las horas pronosticadas de baja y pleamar así como en la altura que éstas alcanzan (Perillo et al. 2004).

Los afluentes principales del estuario son el río Sauce Chico, en la cabecera, y el Arroyo Napostá Grande, que desemboca en la zona media del Canal Principal. Los caudales medios anuales son de 1.9 y 0.8 m³/s respectivamente. Sobre el estuario desembocan otros afluentes de menor importancia, como los arroyos Galván, Maldonado y Saladillo de García. El aporte de cada uno de ellos es muy pequeño y su caudal depende principalmente de las precipitaciones locales (Perillo et al. 2004).

La distribución de la salinidad a lo largo del estuario está influenciada por la descarga de los arroyos, principalmente el Sauce Chico (Piccolo et al. 1987). La salinidad media presenta un crecimiento exponencial desde la cabecera hasta la parte media del estuario, existiendo un mínimo local producido por la influencia del arroyo Napostá y la descarga de las aguas cloacales de Bahía Blanca (Perillo et al. 2004). En la zona interna del estuario la salinidad varía a lo largo del año, con valores entre 17 ups y 43 ups (Freije et al. 1981, 2008; Marcovecchio y Freije 2004). Esto está relacionado con los regímenes estacionales de lluvia, evaporación, vientos y temperaturas. Entre la cabecera y Pto. Cuatrerros la tendencia es de mezcla parcial durante las fuertes descargas del río Sauce Chico, mientras que durante los estiajes de este río resulta ser seccionalmente homogéneo. Por otro lado, entre Pto. Cuatrerros e Ing. White se lo puede considerar como un estuario verticalmente homogéneo (Perillo et al. 2004). La temperatura media anual del agua superficial es de 13°C, variando entre 8.5°C en invierno y 21.6°C en verano y (Piccolo et al. 1987, Perillo et al. 2004).

Los sedimentos son predominantemente arenosos en los canales y hacia el exterior de la bahía y limo-arcillosos hacia el interior de la misma, existiendo variaciones limo-arcillosas a arcillo-limosas entre ambas zonas (Gelos et al. 2004).

Organismos bentónicos

Desde la boca hasta la cabecera del estuario, las planicies de marea se encuentran constituidas principalmente por sustratos blandos, los cuales están relacionados íntimamente con los organismos bentónicos.

En el primer estudio realizado sobre el macrobentos del estuario de Bahía Blanca, Elías (1985) describe, para la zona interna (Pto. Cuatreros y Pto. Galván) y la zona externa (Pto. Rosales y Los Pichones) del estuario, un listado con los taxa registrados. Esta lista incluía los celenterados y priapulidos (ambos con una única especie), los moluscos (con nueve especies, entre ellas la *Littoridina australis* (ahora *Heleobia australis*) y el caracol *Buccinanops globulosum*), los poliquetos (con 12 especies, entre ellas la más abundante *Laeonereis acuta*, y otras como *Scoloplos (L.) verax*, *Eteone sp* y *Axiothella sp*) y los crustáceos (con dos especies de cangrejos: *Cyrtograpsus angulatus* y *Chasmagnathus granulata* (ahora *Neohelice granulata*)).

Actualmente se han registrado 69 especies bentónicas siendo los poliquetos el grupo dominante, seguidos por los moluscos y los crustáceos (Elías et al. 2004).

Dentro de los crustáceos que habitan en el estuario, en particular el cangrejo excavador *Neohelice granulata* (Brachyura, Varunidae), se encuentra ampliamente distribuido a lo largo de la costa Atlántica de Sudamérica, desde el sudeste de Brasil (23°S) hasta el Noreste de la Patagonia Argentina (41°S) (Spivak et al. 1994). Estos organismos bentónicos habitan la zona intermareal, tanto las planicies de marea como las marismas de *Spartina densiflora*, *S. alterniflora*, y *Sarcocornia perennis* (Spivak et al. 1994, Escapa et al. 2008). Esta especie se caracteriza por la formación de comunidades denominadas “cangrejales”. En las marismas mantienen cuevas semipermanentes de hasta 10 cm de diámetro y 1 m de profundidad, pudiendo alcanzar densidades de hasta 60 cuevas/m². En las planicies de marea los cangrejos también forman densos agregados, de hasta 100 cuevas/m², aunque en esta zona suelen ser de una menor profundidad y de un mayor diámetro (Iribarne et al. 1997, Elías et al. 2004).

Aves costeras y marinas

En la zona del estuario de Bahía Blanca hay registradas, a la fecha, 59 especies de aves que utilizan el medio costero y marino y que corresponden a 10 órdenes y 16 familias. El 50 % de las especies registradas pertenece al orden Charadriiformes e incluye a las aves limícolas como las gaviotas, gaviotines y ostreros, entre otros. Algunas han sido catalogadas como ocasionales, como es el caso por ejemplo de la garza bruja (*Nycticorax nycticorax*), la garza blanca (*Ardea alba*), la bandurria austral (*Theristicus melanopis*), el cauquén común (*Chloephaga picta*) y distintas especies de

patos (*Anas versicolor*, *A. platalea*, *A. sibiatrix*, entre otros) (Delhey y Petracci 2004).

Por otra parte en el estuario es posible encontrar tanto especies residentes como migratorias. Estas segundas, que representan casi el 50% de las especies (sin considerar las ocasionales) pueden ser de dos tipos: Neotropicales (se reproducen en Sudamérica durante primavera-verano y luego migran, en otoño-invierno, hacia el norte) o Neárticas (se reproducen en el Hemisferio Norte durante el otoño- invierno austral y luego migran hacia Sudamérica a comienzos de la primavera) (Petracci y Delhey 2005). Respecto de las especies residentes, si bien algunas de ellas nidifican cerca de la costa, como la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*), la gaviota cangrejera (*Larus atlanticus*) y el ostrero pardo (*Haematopus palliatus*), algunas otras, como por ejemplo el flamenco austral (*Phoenicopterus chilensis*), el macá grande (*Podiceps major*) y el tero real (*Himantopus melanurus*) utilizan las zonas de lagunas y bañados para nidificar (Petracci y Delhey 2005; Petracci et al. 2004, 2008).

Situación actual del Estuario de Bahía Blanca

Como producto de la expansión demográfica local durante los últimos 25 años, sobre la costa norte de la zona interna del estuario de Bahía Blanca se ubican los asentamientos urbanos de Bahía Blanca, General Cerri, Ingeniero White y Punta Alta (362.000 habitantes, INDEC Censo 2010). Las actividades humanas que se desarrollan en este ambiente son extremadamente diversas.

En particular, la profundidad natural de más de 10 m del Canal Principal de Navegación, convierte a este sector costero en el único en la provincia de Buenos Aires apropiado para la navegación de grandes buques. Esto ha permitido el desarrollo de un complejo sistema portuario a través del cual se manejan las exportaciones de granos y lana del sur de la Provincia de Buenos Aires (Pto. Ing. White), la carga y descarga de hidrocarburos y productos químicos (Pto. Galván), y el emplazamiento de la base naval más importante de Argentina (Pto. Belgrano) (**Figura 1**). Dada la importancia económica y militar del mantenimiento del calado del Canal Principal de Navegación, se realizan tareas periódicas de dragado, las que incluyen la remoción y re-depositación de unos 3 millones m³/año. La infraestructura portuaria ha favorecido el desarrollo de un polo petroquímico de gran envergadura y en constante expansión, una planta de fraccionamiento y recuperación del gas natural, una planta de producción de amoníaco líquido y fertilizantes, una refinería de petróleo y un parque industrial (Boltovskoy 2007) (**Fig. 1**). Sumado a este panorama de actividades aparece el vertido de los efluentes cloacales de la ciudad de Bahía Blanca con sólo pre-tratamiento de sus aguas y el aporte de varias cuencas a través de cuyas aguas llegan al estuario productos derivados de la actividad agrícola local (Carbone et al. 2008).



Figura 1: Fotografías del estuario de Bahía Blanca. A y B) Zona industrial: Polo Petroquímico y Parque industrial de Bahía Blanca; C-F) Zona portuaria: C) Puerto Galván, D) Puerto Rosales, E) Puerto Piojo (Ing. White) y F) Puerto Belgrano.

Cabe destacar que como consecuencia del desarrollo de la zona costera se ha generado una pérdida de extensas áreas del intermareal (marismas y planicies de marea), tanto por el avance residencial e industrial como por la depositación de los sedimentos provenientes de las tareas de dragado del Canal Principal de Navegación (por ejemplo el sector donde actualmente se encuentra emplazada la compañía Mega S.A. fue rellenado con sedimentos del dragado realizado durante 1990). Además los sedimentos del refulado han generado intensas modificaciones geomorfológicas en la zona de islas y bancos.

Dada la importancia del estuario de Bahía Blanca como fuente de biodiversidad, y con la intención de proteger y conservar este ecosistema frente al creciente desarrollo urbano e industrial, en el año 1998, a partir de la Ley 12.101, fue creada la Reserva Natural de Usos Múltiples Bahía Blanca, Bahía Falsa y Bahía Verde, ubicada dentro del estuario (Partidos de Bahía Blanca, Coronel Rosales y Villarino). Esta reserva incluye aguas, islas y bancos de arena, abarcando una superficie total de 180.000 ha, comprendiendo las islas del Embudo, Bermejo, Trinidad, Wood y Ariadna, numerosas islas menores, islotes, canales y una extensa planicie de mareas. La categoría “Usos Múltiples”, permite la investigación y el uso racional y sostenido del medio y los recursos naturales. En 2006 fue creada una nueva reserva de 319 has, denominada Reserva Natural Municipal, en la costa norte de la parte interna del estuario, en las cercanías de los asentamientos urbanos e industriales (**Figura 2**).

Para el desarrollo de la tesis fueron seleccionados tres sitios de muestreo. Dos de ellos, ubicados en la zona media e interna del estuario, presentan el mayor impacto antrópico por la incidencia del uso residencial e industrial del área. Estos sitios fueron: Villa del Mar y Pto. Cuatreros.

Villa del Mar ($38^{\circ}50'S$ $62^{\circ}07'O$), localizada en la zona media del estuario de Bahía Blanca, es una villa marítima ubicada a 5 Km de Punta Alta. Por contar con un predio municipal con pileta y con el Club Náutico Punta Alta, se desarrollan durante todo el año actividades recreativas, náuticas, de pesca y eventos como la fiesta de la pescadilla organizada por el Club. Además, en la zona costera fue creado un sendero interpretativo, de fácil acceso que se puede realizar en forma autoguiada o con guías especializados. Toda esta zona costera es transitada diariamente tanto a pie como por motos y cuatriciclos.

Pto. Cuatreros ($38^{\circ}44'S$ $62^{\circ}22'O$), cercano a la localidad de Gral. Cerri, es el sitio ubicado en la zona más interna del estuario de Bahía Blanca. Es frecuentado por pescadores durante todo el año, no solamente en la zona del Muelle sino también en los alrededores, adentrándose con sus vehículos para acceder a distintas porciones del canal.

El tercer sitio seleccionado fue el Islote del Puerto ($38^{\circ}48'S$ $62^{\circ}16'O$), cuya superficie actual es de unas 100 ha. Su presente condición geomorfológica está determinada por haber sido sitio de depósito de material sedimentario producido por el dragado del Canal Principal de acceso al puerto de Ingeniero White desde el año 1989 (Petracci et al. 2004).

Actualmente esta práctica ha sido discontinuada. El 10 de Mayo de 2011 la Ley N° 10.907 crea la Reserva Natural Integral Isla del Puerto, conocida como "Islote de la Gaviota Cangrejera" ó "Islote del Puerto", limitando así la presencia humana, a excepción de la relacionada con tareas de investigación.

Los tres sitios de muestreo se pueden observar en la **Figura 2**.

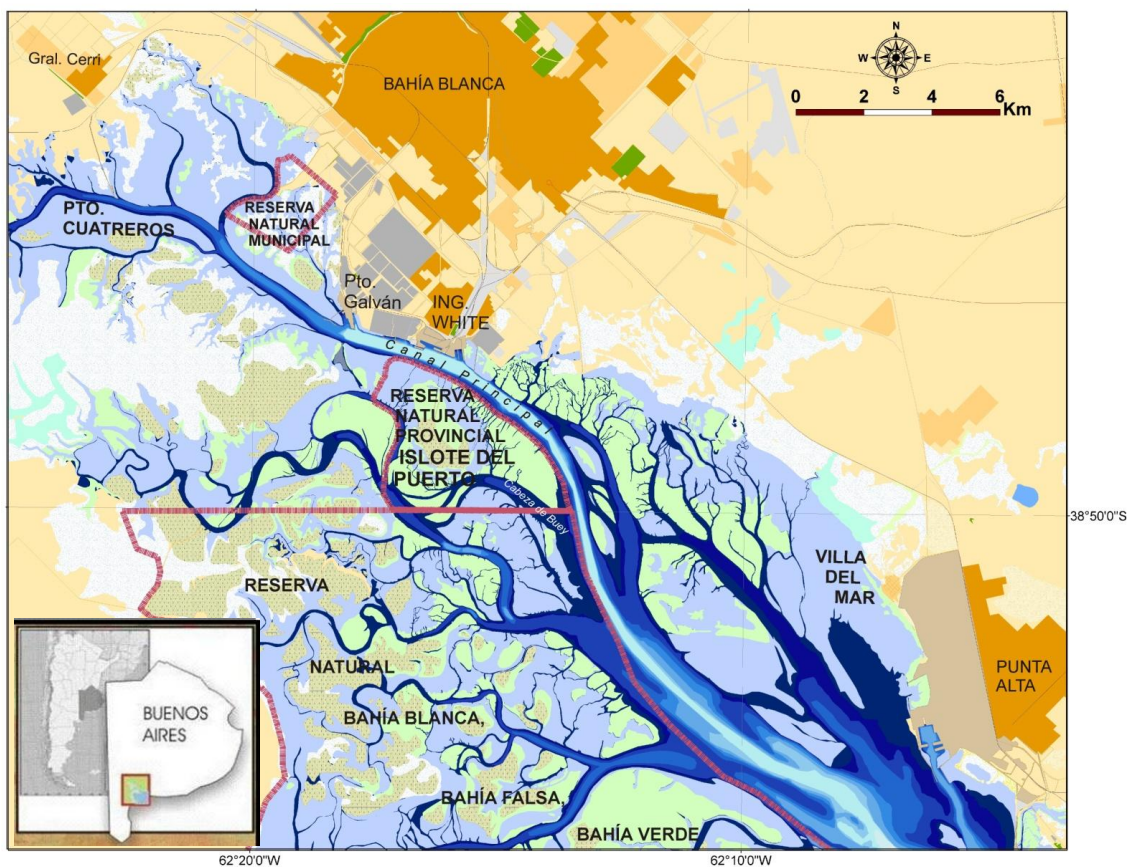


Figura 2: Mapa del área de estudio con la ubicación de los sitios de muestreo (Villa del Mar, Puerto Cuatrerros e Islote del Puerto) y las tres reservas en la zona interna y media del estuario de Bahía Blanca. Mapa W.D. Melo.

Capítulo I

Estudio de la biología reproductiva y la
selección de sitios de nidificación del
ostrero pardo, *Haematopus palliatus*

I. INTRODUCCION

Los ostreros son aves vadeadoras que habitan las zonas costeras y estuarios de diversas partes del mundo. Dentro del orden Charadriiforme, comprenden una única familia, Haematopodidae, a su vez con un único género, *Haematopus*, y 11 especies descritas, tres de las cuales están presentes en la Argentina. Éstas son: *Haematopus leucopodus*, *Haematopus ater* y *Haematopus palliatus* (Narosky e Yzurieta 1989; Gatto et al. 2005).

De estas tres especies, el más conspicuo es el *Haematopus palliatus*, vulgarmente conocido como ostrero común, pardo o americano. Las características más distintivas de esta especie son: el tamaño, entre 40 y 44 cm de largo, el peso, entre 400 y 700 g, el largo y la coloración del pico de 7.5 a 10 cm, de color rojo carmín con la punta amarillenta, las patas delgadas de color rosa pálido y los ojos amarillos con un anillo periocular rojo. La cabeza, el cuello y el pecho superior tienen plumas de un color negro apizarrado. En el dorso, lomo, supracaudales y cobertoras las plumas son de color gris parduzco. En el pecho inferior, abdomen, subcaudales, axilares y subalares las plumas son blancas (**Figura 1**).

Esta especie presenta una distribución que abarca ambas costas del continente americano. En América del Norte se los encuentra hasta la latitud de Massachusetts en la costa este y de Baja California en la costa oeste de Estados Unidos. En América del Sur es posible encontrarlos hasta Tierra del Fuego en Argentina y Chile (Nol y Humphrey 1994, Bachmann 1995). Si bien en el Hemisferio Norte existe una migración durante el

invierno, en el Hemisferio Sur aparentemente son aves residentes permanentes ya que al menos hasta la fecha no han sido descritas migraciones durante ninguna época del año.



Figura 1: Fotografías del ostrero pardo (*Haematopus palliatus*).

Respecto del hábitat, durante la época reproductiva prefieren para nidificar sitios abiertos con escasa vegetación y cerca de la línea de costa (Lauro y Burger 1989). Las áreas costeras incluyen playas de arena o conchas, dunas altas, marismas (con vegetación intermareal como *Spartina alterniflora*), depósitos de dragado y ocasionalmente islas rocosas (Lauro y Burger 1989, Shields y Parnell 1990, Nol y Humphrey 1994).

II. ANTECEDENTES

Existe un considerable número de estudios sobre esta especie en el Hemisferio Norte, tanto sobre aspectos de su biología general así como también sobre su biología reproductiva (Baker y Cadman 1980; Nol et al. 1984; Lauro y Burger 1989; Nol 1989; Lauro et al. 1992; Tuckwell y Nol 1997a, b; Toland 1999; McGowan 2004; McGowan et al. 2005; Simons et al. 2005). Por el contrario, la información disponible sobre esta especie tanto en América Central como América del Sur es escasa (Pacheco y Castilla 2001, Rodríguez-Ferraro y Azpiroz 2004, Hayes et al. 2006, Hernández Pérez 2006).

Si bien fueron realizados en la Argentina algunos estudios sobre la biología alimentaria de esta especie (Siegel-Causey 1991, Bachmann 1995, Martínez y Bachmann 1997, Bachmann y Martínez 1999, Daleo et al. 2005), existe un único trabajo sobre parámetros demográficos y biología reproductiva, llevado a cabo en la laguna costera Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires (Bachmann y Martínez 1998). Por otra parte existe un cierto número de estudios de abundancia de aves costeras y marinas llevados a cabo en las costas de Argentina donde se incluye al ostrero pardo como una de las especies observadas. Estos estudios no poseen información sobre la especie más que el número avistado (Gatto et al. 2005, García y Gómez Laich 2007).

En el estuario de Bahía Blanca, un ecosistema parcialmente impactado por la actividad antrópica, a pesar de que el ostrero pardo es una

de las pocas especies residente que utiliza el área tanto para alimentarse como para reproducirse (Delhey y Petracci 2004, Petracci y Delhey 2005), al día de la fecha, no se han realizado estudios biológicos sobre esta especie en el área.

III. MATERIALES Y METODOS

Toma de datos

Los tres sitios de estudio seleccionados, Villa del Mar (VM), Puerto Cuatreros (PC) y el Islote del Puerto (IP) fueron visitados entre una y dos veces por semana durante el período reproductivo, desde principios de septiembre a mediados de diciembre, en los años 2008 y 2009 (**Figura 2**).

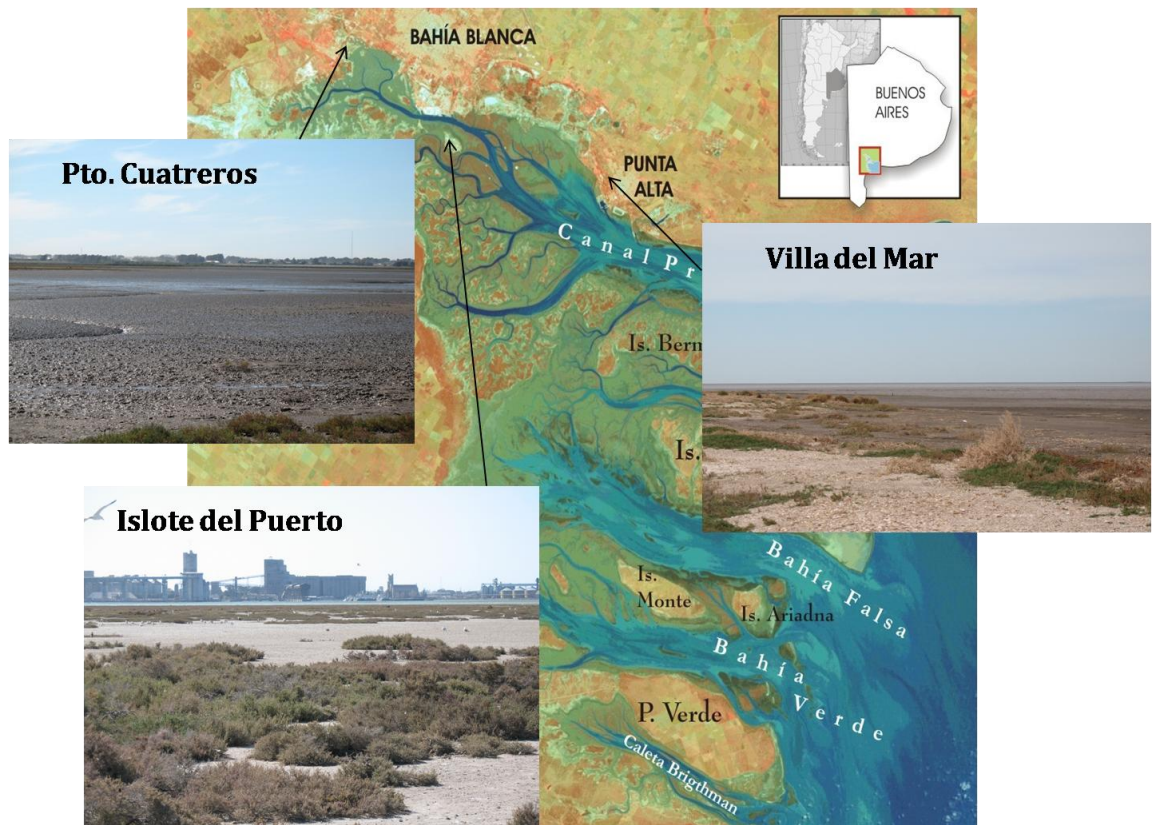


Figura 2: Sitios de muestreo en la zona interna y media del estuario de Bahía Blanca. Fotos: Pía Simonetti.

Se determinó para cada sitio una franja de 100 m de ancho a partir de la línea de marea de tormenta por un frente de costa de 1200 m para VM, 1000 m para PC y 2200 m para el IP. Se pudo establecer así un área de

muestreo para cada uno de los sitios siendo 12 ha para VM, 10 ha para PC y 22 ha para el IP. En cada visita, las áreas de nidificación fueron recorridas registrando el número de ostreros y localizando nidos con huevos. Para ello fueron utilizados tanto binoculares de 10x50 (Bushnell-Modelo Falcon) como un monocular de 20x-60x (Bushnell-Modelo Sportview) (**Figura 3**). Una vez detectado un nido se registró el número de huevos, se los numeró y se marcó cerca del nido con una cinta visible y una clave única (**Figura 4**). Se registró además la posición geográfica con un GPS para facilitar su detección en las siguientes visitas. También se registró la proximidad de cada nido a la línea de marea de tormenta clasificándola como cercana, intermedia o lejana. A su vez se tomó nota del grado de cobertura vegetal asociado al nido, utilizando una escala del 1 al 5 según el esquema de la **Tabla 1**.



Figura 3: Fotografías de utilización de equipo para observación de aves.

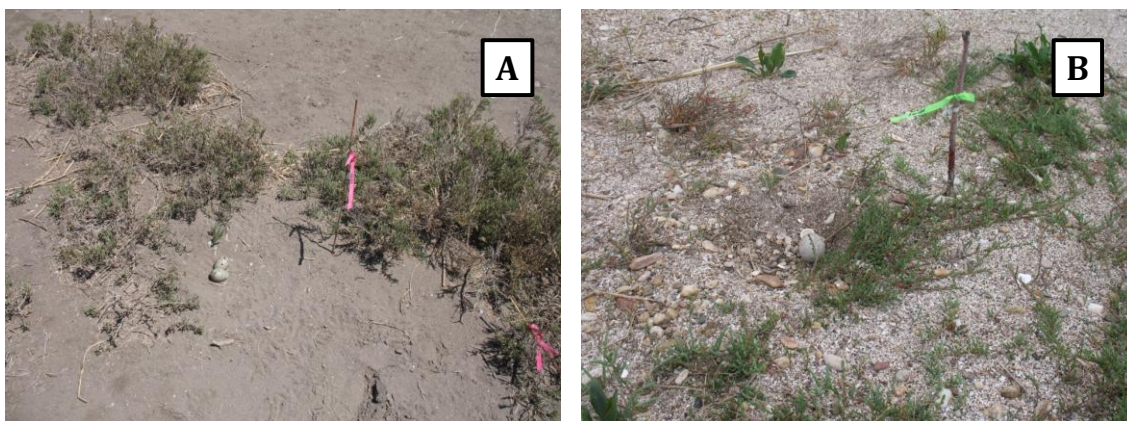


Figura 4: Fotografías de nidos de ostreros marcados con cintas visibles para posteriores reconocimientos, tanto del Islote del Puerto (A) como del Continente (B), en el estuario de Bahía Blanca. Fotos: Pía Simonetti.

Tabla 1: Escala del grado de cobertura vegetal asociado a cada nido

Grado	Descripción
5	Cobertura vegetal más de $\frac{3}{4}$ de la superficie
4	Cobertura vegetal cubriendo entre un $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ de la superficie
3	Cobertura vegetal cubriendo entre un $\frac{1}{4}$ y $\frac{1}{2}$ de la superficie
2	Cobertura vegetal escasa o bien cubriendo menos de $\frac{1}{4}$ de la superficie
1	Individuos bastante abundantes pero con baja cobertura
0	Sin vegetación

En cada nido se registraron diversas características: cavidad (presencia/ausencia), decoración (si/no) y el grado de elaboración de 0 a 3, donde 0 corresponde a nada elaborado, sin siquiera una cavidad, y 3 a un uso abundante de material orgánico e inorgánico dentro y/o delimitando el contorno del nido (**Figura 5**). Además se tomó la medida del diámetro de cada nido con un calibre digital (0-300 mm).

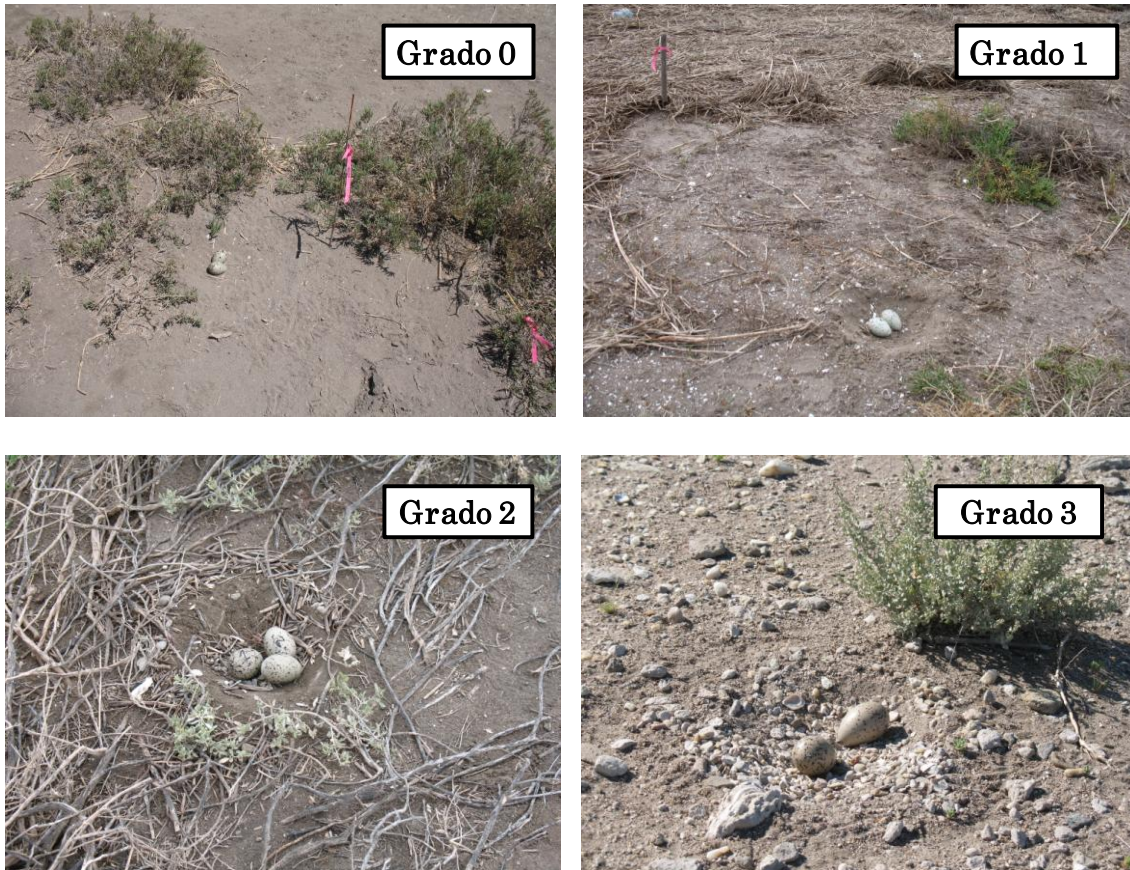


Figura 5: Fotografías con ejemplos de nidos con distinto grado de elaboración tanto del Continente como del Islote del Puerto, en el estuario de Bahía Blanca. Fotos: Pía Simonetti.

Todos los huevos de cada nido fueron marcados con un número y se les midió el Largo (L) y en ancho (A) con calibre digital (**Figura 6**). Dado que la determinación del peso en el campo es difícil de realizar, sumado a que a medida que los días pasan el peso de los huevos varía (debido a la formación del embrión), se utilizó la medida del L y el A, que son más precisas, para determinar el volumen de los huevos. De acuerdo a Hoyt (1979), el volumen (V) de cada huevo de ostrero puede ser determinado a partir de la siguiente ecuación:

$$V = 0.51 \times L \times A^2$$



Figura 6: Fotografías de medición con calibre digital numeración de los huevos de ostreros en el campo. Fotos: Pía Simonetti y Sandra F. Fiori.

Análisis de los datos

Para llevar a cabo los análisis estadísticos se utilizaron 2 programas: SPSS® 15.0, e Infostat® 5.1. Para testear las diferencias entre los parámetros de los huevos así como el diámetro de los nidos entre sitios y años se utilizó el test paramétrico de Análisis de la Varianza (ANOVA) de dos factores, previa comprobación de los supuestos de homocedasticidad (con test de Levene) y normalidad (con test de Shapiro Wilks).

IV. RESULTADOS

Temporada reproductiva

La visita a los tres sitios comenzó en la primera semana de Septiembre, tanto en 2008 como en 2009. En ambos años fueron observadas varias parejas con comportamiento de cortejo y de defensa de territorio desde las primeras visitas a cada lugar. Este comportamiento, conocido habitualmente como “trinar” o “piping display”, es común a todas las especies de ostreros y suele involucrar tres o más parejas de ostreros (Miller y Baker 1980, Nol y Humphrey 1994).

La iniciación de puesta de huevos pareciera ser bastante sincrónica en los 3 sitios en función de lo observado durante los dos años de estudio. En 2008 los primeros nidos con huevos no fueron encontrados hasta fines de septiembre (26 de septiembre para VM, el 28 para PC y el 29 para el IP). En 2009 la aparición de los primeros nidos con huevos fue en fechas similares en PC e IP (21 y 22 de septiembre respectivamente) pero unos días antes para VM (11 de septiembre). Para fines de diciembre (entre el 18 y 21), en ambos años, el único sitio que todavía contaba con nidos activos, es decir, con huevos, fue el IP; en cambio en VM y PC para fines de noviembre ya no quedaba ningún nido con huevos.

Tamaño de la nidada y dimensión de los huevos

El número y densidad de parejas y nidos con huevos en los dos años de muestreo fue mayor en IP que en VM y PC. Los resultados obtenidos se observan en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Número y densidad de parejas y nidos (por ha) para los tres sitios y los dos años de muestreo en el estuario de Bahía Blanca

Sitio	Año	Nº Parejas	Parejas/ha	Nº nidos	Nidos/ha
IP	2008	25	1.14	21	0.95
	2009	30	1.36	23	1.04
VM	2008	7	0.58	4	0.33
	2009	8	0.67	4	0.33
PC	2008	3	0.3	3	0.3
	2009	3	0.3	4	0.4

VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatreros; IP: Islote del Puerto

Excepto para un nido en IP y otro de PC que pudieron ser identificados como una segunda puesta (ya que el mismo nido fue encontrado vacío y unas semanas después con huevos nuevamente), en el resto de los casos esto no pudo ser determinado. Es por ello que no se pudo realizar una división entre primera y segunda puesta, entendiendo a esta segunda como de reemplazo (Nol et al. 1984). Por el contrario se utilizó el número de nidos con huevos encontrados por sitio y por año, sin hacer distinción entre puestas.

Debido al bajo número de nidos con huevos y parejas encontrados en PC y VM en ambos años, estos sitios fueron unidos para el análisis creando

así un nuevo grupo denominado Continente (C). Esto fue posible a partir de la baja dispersión en los parámetros medidos en los huevos (L, A y V). Las comparaciones posteriores fueron realizadas entre C e IP.

La **Tabla 3** muestra el número de nidos con uno, dos o tres huevos para C e IP en 2008 y 2009. El rango de tamaño de las nidadas fue entre uno y tres huevos, siendo dos la moda para ambos sitios. Cabe destacar que IP fue el único sitio que presentó nidadas con tres huevos (cuatro nidos en 2008 y uno en 2009) (**Figura 7**).



Figura 7: Nido del Islote del Puerto con tres huevos. Foto: Pía Simonetti.

Tabla 3: Tamaño de nidada (número de huevos por nido) en Continente (C) y en Islote del Puerto (IP) en dos temporadas reproductivas, 2008 y 2009

Año	Sitio	Número de huevos por nido			n*
		1	2	3	
2008	IP	6	11	4	21
	C	1	6	0	7 ^a
2009	IP	5	17	1	23
	C	4	7	0	11 ^b

*= Número de nidos por sitio

a, b=4/3 y 7/4 representan el número de nidos para VM y PC respectivamente

Dado que la secuencia de la puesta de huevos no pudo ser determinada para la mayor parte de los nidos, para cada nido se calculó el promedio de cada uno de los tres parámetros medidos en cada huevo (L, A y V). Estos valores medios obtenidos fueron utilizados para testear diferencias entre sitios y años. Para los tres parámetros las interacciones fueron no significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre años para ninguno de los parámetros. Sin embargo sí se encontraron diferencias significativas entre sitios tanto para el largo medio como el volumen medio de los huevos siendo, en ambos casos, mayores en C que en IP. Los resultados de los ANOVAs se presentan en las **Tablas 4, 5 y 6**, para Largo medio, Ancho medio y Volumen medio de los huevos de ostreros, respectivamente.

Tabla 4: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y año) para la variable **largo medio** (cm) de huevos de ostrero. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para ambos sitios

F.V.	SC	gl	CM	F	Sign.
Sitio	0.19	1	0.19	4.6	0.0361*
Año	0.01	1	0.01	0.2	0.6593
Sitio x Año	0.01	1	0.01	0.13	0.7173
Error	2.42	58	0.04		
Total	2.62	61			

Sitio	Medias	n	ES	
IP	5.62	44	0.03	A
C	5.74	18	0.05	B

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$); IP: Islote del Puerto; C: Continente

Tabla 5: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y año) para la variable **ancho medio** de los huevos de ostrero

F.V.	SC	gl	CM	F	Sign.
Sitio	0.01	1	0.01	2.05	0.1579
Año	0.00039	1	0.00039	0.06	0.8118
Sitio x Año	0.00066	1	0.00066	0.1	0.7569
Error	0.39	58	0.01		
Total	0.41	61			

Tabla 6: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y año) para la variable **volumen medio** (cm³) de los huevos de ostrero. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para ambos sitios

F.V.	SC	gl	CM	F	Sign.
Sitio	37.82	1	37.82	5.36	0.0242*
Año	0.02	1	0.02	0.0022	0.9629
Sitio x Año	1.39	1	1.39	0.2	0.6595
Error	409.57	58	7.06		
Total	448.26	61			

Sitio	Medias	n	ES	
IP	43.62	44	0.4	A
C	45.37	18	0.64	B

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$); IP: Islote del Puerto, C: Continente

La **Tabla 7** muestra los valores medios de los tres parámetros en ambos sitios, C e IP, con los años promediados.

Tabla 7: Valores medios de los parámetros de los huevos (Largo: L, Ancho: A y Volumen medio: V), en cm, en Islote del Puerto (IP) y Continente (C)

Sitio	Parámetros de los huevos			n*
	L medio (cm)	A medio (cm)	V medio (cm³)	
IP	5.62 ± 0.20 ^a	3.90 ± 0.08	43.63 ± 2.62 ^a	44
C	5.73 ± 0.20 ^b	3.94 ± 0.08	45.33 ± 2.58 ^b	18

*= número de huevos utilizado para calcular los valores medios

a, b= en la misma columna, distintas letras implican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Para el diámetro de los nidos no se halló una interacción significativa entre sitios y años; a su vez tampoco se encontraron diferencias significativas para ninguno de los factores analizados. El diámetro medio para IP fue 20.63 ± 0.30 cm y para C fue 20.99 ± 0.48 cm. Los resultados del ANOVA se observan en la **Tabla 8**.

Tabla 8: Resultado del ANOVA de dos factores (sitio y año) para la variable **diámetro del nido** del ostrero pardo

F.V.	SC	gl	CM	F	Sign.
Sitio	1.57	1	1.57	0.4	0.5304
Año	7.07	1	7.07	1.79	0.1859
Sitio x Año	2.02	1	2.02	0.51	0.4775
Error	228.82	58	3.95		
Total	236.68	61			

Si bien no fue posible analizar el éxito reproductivo del ostrero pardo por la dificultad de hacer un seguimiento día por medio de cada sitio, tanto por motivos climatológicos como de logística, en los dos años de muestreo fue posible hallar huevos eclosionando así como también pichones. Para el caso de IP, en el año 2008 fue posible identificar un nido con tres huevos en el momento de la eclosión (26/11/08). En las próximas visitas los pichones no fueron detectados. En el 2009 fue posible identificar dos nidos con huevos al momento de la eclosión (1/10/09), uno de ellos con un único huevo y el otro nido con dos huevos, los cuales comenzaron a eclosionar e inmediatamente fue posible ver los pichones (**Figura 8**). En las siguientes visitas los pichones no fueron vueltos a ver. Para el caso de C, en este caso en Villa del Mar, en el año 2008 se detectaron tres pichones en una primera observación

(23/10/08), y dos en los siguientes encuentros (probablemente el otro haya muerto) (**Fig. 8**). Estos dos pichones fueron vistos en las siguientes visitas, hasta fines de diciembre, siempre cerca de ambos padres.



Figura 8: Fotografías de nidos con huevos eclosionando en el Islote (A y B) y de pichones de ostrero pardo en el Continente, en este caso en Villa del Mar (C y D). Fotos: Pía Simonetti.

Uso del hábitat: sitios de nidificación y características de los nidos

Para poder hacer una descripción del uso del hábitat así como de los nidos del ostrero pardo, tanto durante 2008 como 2009 se registraron, en los tres sitios de muestreo, diversas características. Como en el análisis

anterior, VM y PC fueron unificados conformando Continente (C). Esto fue posible, nuevamente, por la similitud hallada en ambos sitios respecto del uso del hábitat. A partir de los resultados obtenidos de todos los nidos se calcularon, dentro de cada variable, los porcentajes en función de su propia escala para IP y para C. Estos se presentan en la **Tabla 9**.

Tabla 9: Características de los nidos, expresada en porcentajes (%), para el Islote del Puerto y el Continente. Los valores en negrita representan el porcentaje más alto para cada variable dentro de su propia escala.

Característica	Escala	Islote (%)	Continente (%)
Proximidad a línea de marea de tormenta	Cercana	63.64	0
	Intermedia	25.00	66.67
	Lejana	11.36	33.33
Grado de cobertura vegetal	1	13.64	0
	2	6.82	11.11
	3	20.45	55.56
	4	20.45	27.78
	5	29.54	5.56
	0	9.09	0
Cavidad	Sí	72.73	66.67
	No	27.27	33.33
Decoración	Sí	61.36	61.11
	No	38.64	38.89
Grado de elaboración	0	18.18	11.11
	1	52.27	61.11
	2	25.00	16.67
	3	4.55	11.11

Si bien con la proximidad a la línea de marea de tormenta así como con el grado de cobertura vegetal surgen diferencias entre IP y C, con respecto a las restantes características, que involucran el nido en sí, ambos sitios presentaron similitudes.

Los nidos en IP se establecieron mayormente cerca de la línea de marea de tormenta (más del 60%), con un menor porcentaje en una posición intermedia (el 25%) y lejana (menos del 12%). La cobertura con más del 75% del área (5 en la escala) fue la que preponderó entre los nidos. La especie vegetal que destacó sobre las demás fue *Sarcocornia perennis*, la cual fue hallada en casi la totalidad de los nidos. Otras especies vegetales encontradas fueron: *Limonium brasilensis*, *Heterostachys ritterana*, *Cressa truxillensis*, *Suaeda divaricata*, *Allenrolfea patagonica* y *Atriplex undulata*. Algunos de los nidos más cercanos a la línea de marea de tormenta también utilizaron a la espartina seca acarreada por las mareas de tormenta como sustrato para depositar sus huevos (**Figura 9**). El uso de este material ya había sido descrito en la literatura para esta especie en el hemisferio Norte (Lauro y Burger 1989, Shields y Parnell 1990). Por otra parte, más del 50% de los nidos presentó una cierta elaboración, ya sea por la presencia de una cavidad (más del 70% de los nidos), por la presencia de decoración (más del 60% de los nidos) o por el grado de elaboración (más del 50% con grado 1 de decoración, es decir con cavidad y muy poco material orgánico y/o inorgánico en el nido).

Los nidos de C, por el contrario, se establecieron mayormente en una posición intermedia a la línea de marea de tormenta (más del 65%), con el porcentaje restante ubicado lejos de la misma. La cobertura con entre un 25 y un 50% del área (3 en la escala) fue la preponderante entre los nidos. En este caso predominaron varias especies vegetales, entre ellas *Sarcocornia perennis*, *Allenrolfea patagónica* y *Frankenia juniperoides*. Otras especies

encontradas fueron: *Limonium brasilensis*, *Cressa truxilliensis* y *Cyclolepis genistoides*. Aunque en menor cantidad, también se hallaron algunos nidos asentados sobre espartina seca acarreada por las mareas de tormenta (Fig. 9). Respecto de la elaboración de los nidos, los resultados fueron similares a los hallados para IP, con un grado de elaboración en más del 50% de los nidos, tanto por la presencia de una cavidad en más del 60% de los nidos hallados así como por la presencia de decoración en más de un 60% de estos.

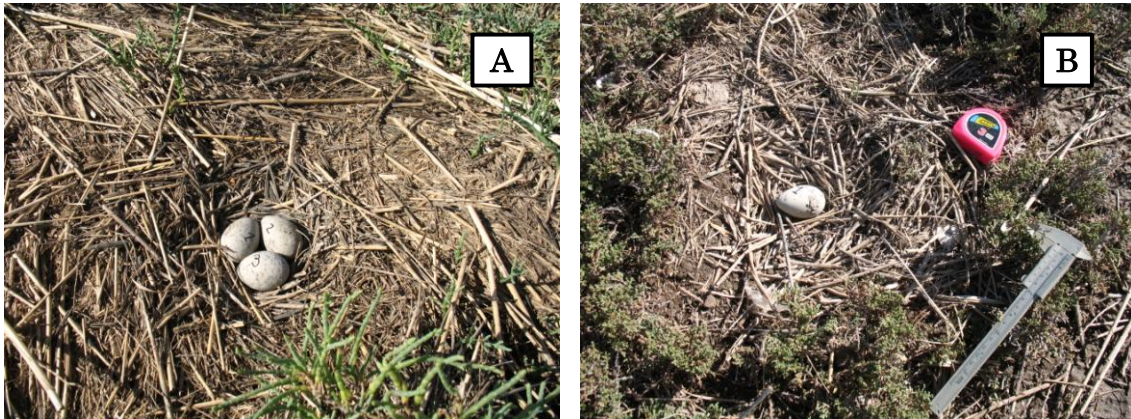


Figura 9: Fotografías de nidos del Islote (A) y Continente (B) elaborados sobre espartina seca acarreada por las tormentas. Fotos: Pía Simonetti.

Es interesante mencionar que si bien algunos nidos presentaron gran cantidad de elementos decorativos, algunos otros, tanto en C como en IP, resultaron crípticos, con poca decoración, poca vegetación y sobre sustratos arenosos o rocosos con fondos muy semejantes a la tonalidad de los huevos,

que es entre gris y beige, con pintas grisáceas, lo que los hace muy similares a las piedras (**Figura 10**).

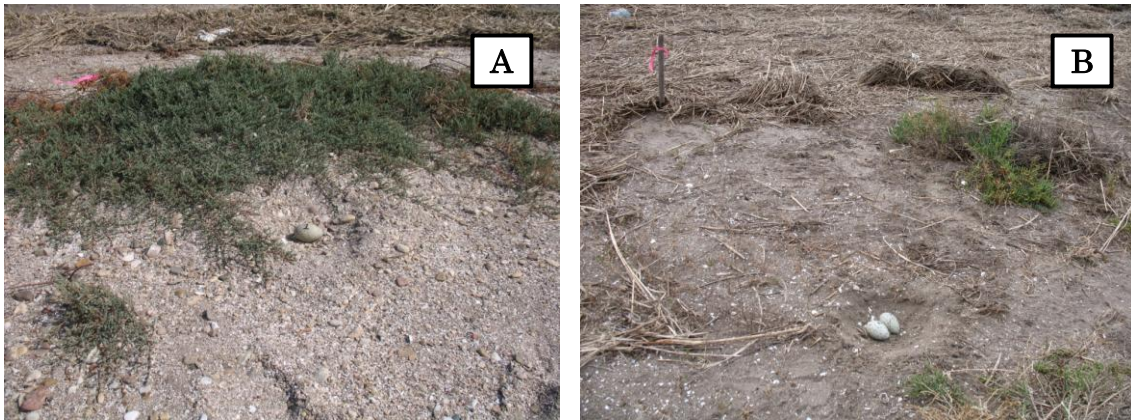


Figura 10: Fotografías de ejemplos de nidos crípticos tanto en el Continente (A) como en el Islote del Puerto (B) en el estuario de Bahía Blanca. Fotos: Pía Simonetti.

V. DISCUSION

Temporada reproductiva

Se determinó una sincronía en el inicio de la puesta de huevos en los tres sitios muestreados, siendo la puesta hacia fines de septiembre en el 2008 y entre mediados y fines de septiembre en el 2009. La sincronía en la puesta de huevos fue también registrada en otros estudios tanto para *H. palliatus* como para otras especies de ostreros, como por ejemplo *H. ostralegus finschi* (Baker y Cadman 1980, Nol et al. 1984, Nol y Humphrey 1994, Sagar et al. 2000).

Días previos a la aparición de los primeros huevos se pudo observar a diversas parejas con comportamiento de cortejo y defensa del territorio. El llamado “piping display”, es un comportamiento muy común en ostreros. Este involucra una serie de posturas, movimientos y trinos que generalmente se encuentran asociados a contextos de agresividad y reproducción. Los trinos no sólo ocurren en tierra siendo también emitidos durante el vuelo (Miller y Baker 1980).

Nol et al. (1984), estudiando poblaciones de *H. palliatus* en Virginia, Estados Unidos (37°50'N, 75°30'O), observaron que esta especie se caracteriza por ser agresiva hacia las parejas vecinas, lo que las lleva a participar de largos “piping displays” en período previo a la puesta de huevos. Dado que los autores hallaron una sincronía en la puesta de huevos

en *H. palliatus*, propusieron que la estimulación social podría afectar las fechas de puesta de huevos en los ostreros favoreciendo la sincronía.

Este comportamiento descrito para *H. palliatus* en el Hemisferio Norte ahora ha sido observado en el estuario de Bahía Blanca, por lo tanto se podría pensar que en estas poblaciones esta conducta también podría estar actuando como estímulo para la puesta de las hembras, como proponen estos autores.

Tamaño de la nidada y dimensión de los huevos

En el Islote del Puerto se halló un número mayor de parejas y de nidos, y por ende una mayor densidad de ambos por hectárea, siendo superiores a los números hallados en Villa del Mar y Puerto Cuatrerros.

Comparando Islote y Continente se encontraron algunas diferencias. En primer lugar, si bien la moda en el número de huevos por nido fue dos en ambos sitios, el Islote fue el único sitio que presentó nidadas con tres huevos en ambos años (cuatro nidos en el 2008 y uno en el 2009). Por otra parte, una segunda diferencia estuvo dada por dos de los tres parámetros de los huevos, el largo medio y el volumen medio, que presentaron diferencias significativas siendo mayores en el Continente que en el Islote. Esto estaría indicando huevos significativamente más grandes en el Continente que en el Islote. De todas formas, para poder afirmar que efectivamente existe esta diferencia en el tamaño de los huevos entre ambos sitios, sería necesario continuar con la toma de datos en las siguientes temporadas reproductivas,

principalmente para poder descartar que esta diferencia no se deba a factores como por ejemplo un tamaño muestral bajo (principalmente en el Continente).

En la **Tabla 10** se comparan los valores de los tres parámetros medidos en los huevos de *H. palliatus* en este estudio con la bibliografía disponible para esta misma especie. Lo que puede observarse es que los valores obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los valores descriptos en la bibliografía, tanto para el Hemisferio Norte (Baker y Cadman 1980, Nol et al. 1984) como para el Hemisferio Sur (Bachmann y Martínez 1998).

Tabla 10: Comparación de los parámetros de los huevos del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, medidos en este estudio con los valores reportados para esta especie en el resto del Continente Americano

Sitio	Parámetros de los huevos			Referencias
	Largo (cm)	Ancho (cm)	Volumen (cm ³)	
Islote del Puerto	5.62 ± 0.20	3.90 ± 0.08	43.63 ± 2.62	Este estudio
Continente	5.73 ± 0.20	3.94 ± 0.08	45.33 ± 2.58	
Virginia, EEUU	5.68 ± 1.86	3.97 ± 1.10	45.66 ± 4.97	Baker y Cadman (1980)
Virginia, EEUU	5.65 ± 0.02	4.0 ± 0.02	43.2 ± 0.7	Nol et al. (1984)
Mar Chiquita, Argentina	5.67	3.85	43.67	Bachman y Martínez (1998)

Uso del hábitat: sitios de nidificación y características de los nidos

La flexibilidad al momento de elegir el hábitat para nidificar así como al momento de la construcción de los nidos es de vital importancia para el

éxito de una especie, en este caso en particular el ostrero pardo, que es capaz de reproducirse a lo largo de una región geográfica suficientemente extensa como es el estuario de Bahía Blanca y en donde pueden aparecer condicionantes como la disponibilidad de alimento, la depredación, la competencia y el impacto antrópico. Otros factores importantes que juegan un rol crítico en la flexibilidad son las condiciones físicas del ambiente, como el clima, el espacio disponible o la fisonomía del hábitat. La flexibilidad frente a la elección de sitios de nidificación podría minimizar los costos por depredación, o por presencia humana, por ejemplo, aumentando así el éxito reproductivo de la especie. Esto podría resultar entonces en mayores números poblacionales y expansiones hacia nuevos hábitats.

Con respecto al uso del hábitat se encontró que los nidos del Islote se ubicaron preferentemente cerca de la línea de marea de tormenta, mientras que los del Continente se ubicaron mayormente en una posición intermedia (mayor porcentaje) y lejos de la misma (menor porcentaje). A su vez un mayor porcentaje de nidos del Islote presentó un grado de cobertura vegetal de más del 75% del área mientras que más del 50% de los nidos del Continente presentaron una cobertura vegetal de entre un 25 y un 50% del área. Una diferencia notable entre ambos sitios es que si bien las áreas de nidificación del ostrero pardo en el Continente no presentan otras especies de aves nidificando en el mismo lugar, por el contrario en el Islote coinciden, en gran medida, con las áreas de nidificación de otras aves, en este caso coloniales, como la gaviota cangrejera, *Larus atlanticus*, y la gaviota cocinera, *Larus dominicanus*. Estas especies, quienes al momento de

nidificar en el Islote suelen formar colonias de hasta 3100 nidos para *L. dominicanus* (Petracci et al. 2004) y 3800 nidos para *L. atlanticus* (Petracci et al. 2008), son potenciales depredadores de los huevos de los ostreros. Si bien en general los nidos de los ostreros no se encuentran dentro de estas colonias, la posición de estos es muy cercana. Por lo tanto una posible explicación al mayor grado de cobertura vegetal y la mayor cercanía a la línea de marea de tormenta podría ser la protección de los huevos a potenciales ataques por parte de las gaviotas, lo que denotaría una flexibilidad frente a la depredación.

Con respecto a la elaboración de los nidos, no se hallaron grandes diferencias entre ambos sitios, teniendo en cuenta que tanto en el Islote como en el Continente más del 50% de los nidos presentó una cavidad, más del 50% de los nidos presentó una decoración y más del 45% de los nidos presentó un cierto grado de elaboración, de entre 1 y 3, es decir, desde nidos sólo con cavidad hasta nidos altamente decorados, con piedras, ramas secas y pinzas de cangrejos entre otros elementos. Generalmente los nidos suelen decorarlos con elementos provenientes de sectores aledaños. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, una cierta cantidad de nidos, tanto en el Islote como en el Continente, resultaron crípticos y con muy poca decoración. Esto es de vital importancia al momento de evitar potenciales depredadores, como podrían ser las gaviotas y otras aves.

El impacto antrópico no se distribuye de manera homogénea dentro de la zona media e interna del estuario de Bahía Blanca. Comparando los

sitios estudiados, la mayor diferencia se encuentra en la perturbación por la presencia humana, registrándose un mayor impacto sobre el Continente. Esta diferencia podría ser un factor que explique la mayor densidad de parejas y de nidos en el Islote que el Continente. Hay evidencias de que la presencia humana interfiere en la actividad de las aves costeras y marinas, como por ejemplo en la alimentación o el cuidado parental, y por lo tanto puede acarrear consecuencias severas, principalmente a nivel de éxito reproductivo (Burger y Gochfeld 1991b, Davidson y Rothwell 1993, Verhulst et al. 2001, McGowan 2004). Nuevamente aquí estaría interviniendo la flexibilidad frente a la selección de un determinado sitio para nidificar, considerando en este caso como condicionante la presencia humana. Es por este motivo que es factible encontrar que aquellos sitios que son más perturbados por la presencia humana sean evitados por las aves al momento de establecerse en un determinado lugar, sobre todo al momento de reproducirse (Verhulst et al. 2001).

Respondiendo a la primer subhipótesis planteada en este estudio, ha sido posible establecer una variabilidad en la densidad de parejas y nidos respecto a la posición en el estuario de Bahía Blanca en función del impacto antrópico, específicamente por la presencia humana.

A futuro sería interesante poder determinar el éxito reproductivo de esta especie en ambos sitios, Islote y Continente y ver si existen diferencias entre ellos. La correlación entre el éxito reproductivo y las variables que

fueron analizadas en este estudio permitiría tener una idea más acabada de cada una de las poblaciones estudiadas.

Capítulo 2

Metales pesados en invertebrados
bentónicos *ítems* presa y cáscaras de
huevos del ostrero pardo

I. INTRODUCCION

Los metales pesados son introducidos en los sistemas acuáticos tanto por procesos geomorfológicos (es la fuente de niveles de base, o *background levels*) así como por una gran variedad de actividades antrópicas como la minería, los procesos industriales (por ejemplo sales de cromo en curtiembres, o plomo como antidetonante en naftas), los residuos líquidos y/o sólidos de origen doméstico, los aportes atmosféricos (la lluvia actúa como importante transporte de metales desde la atmósfera hasta los sistemas terrestres) y los escurrimientos desde las zonas rurales y urbanas (Förstner y Wittman 1983). Una vez ingresados en el sistema, los metales pueden hallarse bajo distintos reservorios abióticos que interactúan entre sí. Estos son: el material particulado en suspensión (MPS), el agua de columna, el agua intersticial y el sedimento (Salomons y Förstner 1984).

Los metales depositados en el sedimento pueden ser reciclados hacia la columna de agua por procesos geomorfológicos, biológicos y químicos tales como cambios en el pH, la temperatura, la salinidad, las condiciones redox, por la presencia de materia orgánica, por bioturbación y por la resuspensión producto de actividades como el dragado frecuente (Ip et al. 2007, Zoumis et al. 2001).

Si bien la biodisponibilidad de los metales está asociada a factores fisicoquímicos, la bioacumulación está fuertemente influenciada por las diversas estrategias de acumulación de los organismos acuáticos. Si esto no fuera así, uno esperaría encontrar concentraciones similares de los metales

en los diferentes organismos. Estos han desarrollado mecanismos especiales para absorber y excretar sustancias esenciales, sin embargo, si carecen de un mecanismo específico para eliminar un determinado químico, este será acumulado (Zauke et al. 1998).

La bioacumulación de metales pesados en los invertebrados acuáticos es de vital importancia por dos motivos: 1) Porque pueden causar potenciales problemas fisiológicos en estas especies y 2) Por el potencial que poseen algunos metales pesados para ser transferidos a través de las cadenas tróficas. Por otra parte estos organismos pueden actuar como bioindicadores de contaminación en el sitio donde habitan, debido a la presencia de metales en sus tejidos.

Para el caso particular de las aves marinas y costeras, éstas adquieren los metales tanto a través del agua, la cual beben, como a través de la dieta, que en la mayoría de los casos incluye a los invertebrados marinos (Burger y Gochfeld 1991a, 2002). Una vez que los metales ingresan en el organismo de las aves, estos pueden ser eliminados a través de la deposición en las plumas durante los períodos de crecimiento rápido de las mismas (luego de la muda), por la glándula uropígea y por la glándula de la sal (Burger y Gochfeld 1996; Burger et al. 1993, 1994, 2000). A su vez las hembras pueden secuestrar algunos metales como el manganeso, mercurio, cromo, plomo y cadmio en los huevos y en las cáscaras, lo que podría poner en riesgo el desarrollo embrionario. Los niveles hallados en los huevos están relacionados con una exposición reciente de las hembras a esos metales así

como por la movilización de los metales almacenados en sus organismos al momento de formación de los huevos (Burger y Gochfeld 1991a, 1995c, 1996; Gochfeld 1997).

Es importante tener en cuenta que muchos metales pesados y metaloides (mercurio, cadmio, plomo, manganeso, selenio, etc) tienen un fuerte efecto sobre el desarrollo y el sistema nervioso de las aves (Burger y Gochfeld 2002).

Dado que la dieta del ostrero pardo se encuentra parcialmente constituida por cangrejos y poliquetos (Nol y Humphrey 1994), determinar los niveles de ciertos metales pesados en aquellos invertebrados *ítem* presa del ostrero y a su vez determinar los niveles de esos mismos metales en los huevos de esta especie es crítico a la hora de establecer su potencial vulnerabilidad en el estuario de Bahía Blanca.

II: ANTECEDENTES

Desde el año 1978 se vienen realizando, principalmente en la zona interna del estuario de Bahía Blanca, estudios sobre la distribución y concentración de metales pesados tanto en sedimento, material particulado en suspensión (MPS) y agua como en diversas especies, tanto animales (tiburones, lenguado, langostino y camarón) como vegetales (diatomeas y plantas halófitas) (Villa y Pucci 1985, 1987; Pucci 1988; Marcovecchio et al. 1988a, 1988b, 1988c, 1991, 2001; Marcovecchio 1994; Andrade et al. 1996, 2000; Ferrer et al. 2000; Andrade 2001; Botté 2005; De Marco et al. 2006; Fernández Severini 2008).

En cangrejos, los únicos estudios llevados a cabo en el estuario fueron los realizados por Ferrer, en los cuales analizó los efectos tóxicos de diversos metales sobre *Neohelice granulata* (antes *Chasmagnathus granulata*) (Ferrer 2001, Ferrer et al. 2006). Por otro lado, si bien hay un considerable número de estudios sobre poliquetos del estuario (Elías 1985, 1992; Elías y Ieno 1993; Elías y Bremec 1994; Elías et al. 2004), ninguno de ellos hace referencia a los niveles de metales pesados en los mismos.

Algo similar a lo que ocurre con los estudios sobre poliquetos sucede con la información disponible de metales pesados en aves. Existen estudios sobre diversos aspectos de la biología de aves marinas y costeras como la gaviota cocinera, *Larus dominicanus*, y la gaviota cangrejera, *Larus atlanticus*, entre otras (Delhey et al. 2001; Delhey y Petracci 2004, Petracci y Delhey 2005; Petracci et al. 2004, 2007; La Sala et al. 2011a). Los estudios

sobre *L. atlanticus* son de vital importancia teniendo en cuenta que esta especie se encuentra amenazada, siendo así una de las prioridades de conservación en el estuario de Bahía Blanca (Delhey y Petracci 2004). Sin embargo, los únicos estudios de metales pesados en aves marinas y costeras son los trabajos sobre *L. atlanticus* (La Sala et al. 2009, 2011b). Por otra parte, no se han realizado aún estudios de metales en huevos de estas especies.

Por lo tanto el presente trabajo constituye el primer antecedente de niveles de metales pesados, tanto en poliquetos como en huevos de una especie de ave costera (ostrero pardo) del estuario de Bahía Blanca.

III. MATERIALES Y METODOS

Durante el desarrollo de este segundo capítulo de la Tesis Doctoral fueron realizadas tareas de campo así como también trabajo de laboratorio. El trabajo de campo consistió en campañas de muestreo tanto por vía terrestre (Villa del Mar y Puerto Cuatreros) como por vía marítima (Islote del Puerto) a bordo de la canoa de madera con motor “Roma” perteneciente al IADO (**Figura 1**) o a bordo del gomón perteneciente a la Reserva Natural de Usos Múltiples Bahía Blanca, Bahía Falsa y Bahía Verde.

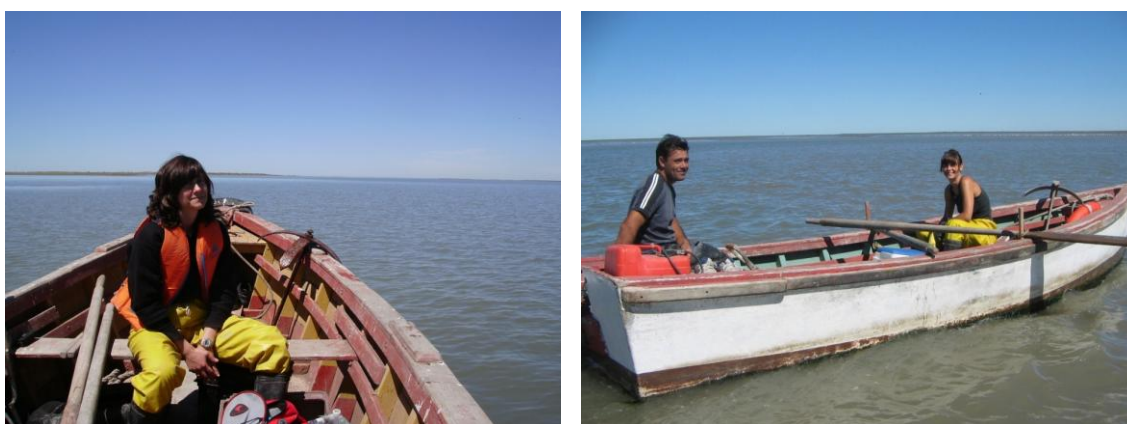


Figura 1: Fotografías de salida por vía marítima para la realización del muestreo de invertebrados bentónicos en el Islote del Puerto, en el estuario de Bahía Blanca.

El muestreo de cangrejos y poliquetos (invertebrados bentónicos) en Villa del Mar (VM) y Puerto Cuatreros (PC) se realizó bimestralmente desde Octubre de 2008 hasta Agosto de 2009. Por otra parte, el muestreo en el Islote del Puerto (IP) se realizó entre Marzo y Noviembre de 2010 (**Tabla 1**). Contrariamente al muestreo de invertebrados bentónicos, la obtención de

muestras de huevos de ostreros no fue metódica sino que correspondió a encuentros de huevos rotos en el área de nidificación de los ostreros en los tres sitios de muestreo (ver más abajo).

Cabe destacar que los sitios seleccionados para el muestreo de invertebrados fueron aquellos mismos sitios donde se realizó el estudio de la biología reproductiva y la selección de sitios de nidificación del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, descrito en el Capítulo I.

El trabajo de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Marina del IADO.

A continuación se detallan las tareas realizadas, tanto en el campo como en el laboratorio.

Tabla 1. Fechas de las campañas realizadas en los tres sitios de muestreo seleccionados

Villa del Mar	Pto. Cuatrerros	Islote del Puerto
25/10/2008	03/11/2008	01/03/2010
10/12/2008	11/12/2008	16/03/2010
09/03/2009	10/03/2009	30/04/2010
13/04/2009	22/04/2009	26/10/2010
10/06/2009	25/06/2009	23/11/2010
10/08/2009	19/08/2009	

- **Obtención de los organismos**

Para la determinación de metales pesados en tejido blando del cangrejo *N. granulata*, los individuos de ambos sexos fueron recolectados

manualmente durante la marea baja en los cangrejales de las planicies de marea desnuda (sin vegetación). Se recolectaron alrededor de 15 individuos de cada sexo, descartando aquellos que presentaban pérdidas de miembros u otras anomalías. Se seleccionaron cangrejos adultos (**Figura 2**) con un ancho máximo del caparazón mayor a 15 mm para las hembras y mayor a 17 mm para los machos, según Luppi et al. (2004). La determinación del sexo fue realizada a partir de la observación del abdomen de los individuos, teniendo en cuenta que el abdomen de los machos es más angosto que el de las hembras (**Figura 3**).



Figura 2: Fotografías de individuos adultos de *Neohelice granulata* en el cangrejal de la planicie de marea del estuario de Bahía Blanca.

En el caso de hallar hembras ovígeras, también fueron recolectadas y analizadas posteriormente en forma separada. Los individuos fueron transportados en un recipiente plástico con agua del estuario hasta el laboratorio. Allí fueron lavados con agua destilada, separados por sexos en bolsas de polietileno debidamente rotuladas y puestos en el freezer a -20°C hasta su procesamiento.

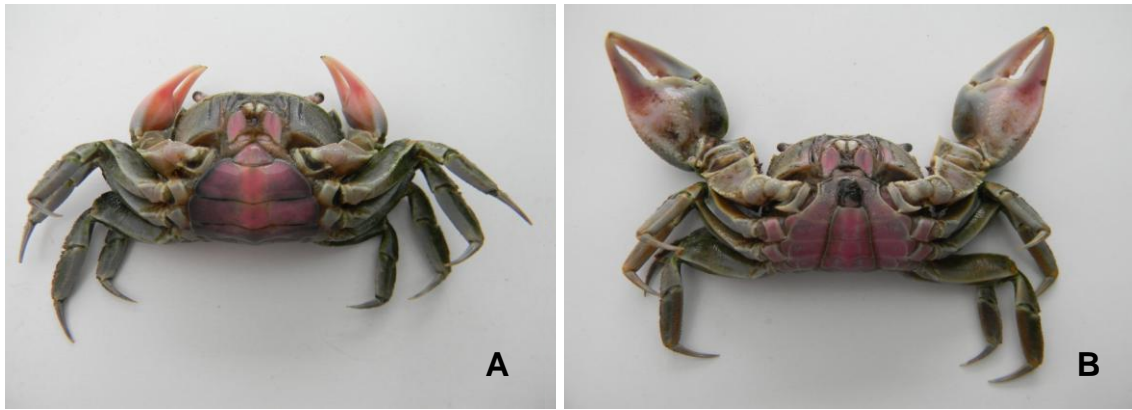


Figura 3: Fotografías de individuos adultos de *Neohelice granulata*, hembras (A) y machos (B), del cangrejal de la planicie de marea del estuario de Bahía Blanca.

Posteriormente, se realizó la disección de las muestras de cangrejos para separar el tejido blando del caparazón, que fue descartado. Luego, se colocaron *pooles* de tejido blando de entre cinco y seis individuos (de acuerdo al sitio y el sexo) en cápsulas de Petri en estufa a 50 °C hasta alcanzar peso constante (aproximadamente luego de tres días). Finalmente las muestras ya secas fueron homogeneizadas individualmente por medio de un mortero de porcelana obteniendo una harina de cada una de éstas. Luego fueron colocadas en bolsas de polietileno rotuladas y todas ellas fueron conservadas en un desecador hasta su análisis químico.

Los huevos de las hembras ovígeras fueron removidos del abdomen y enjuagados con agua destilada (**Figura 4**). Las masas de huevos, previamente agrupadas por sitio (n entre tres y cuatro individuos), fueron también colocadas en cápsulas de Petri y secadas en estufa hasta alcanzar peso constante. Una vez obtenidas las harinas, previa homogenización con el

mortero, éstas fueron conservadas de la misma forma que las harinas obtenidas de tejido blando hasta su posterior análisis químico.



Figura 4: Hembra ovígera de *Neohelice granulata*.

Para la determinación de metales en poliquetos, se realizó una muestra integrada, la cual consiste en una mezcla homogénea y varias submuestras del mismo tipo de sustrato, tomadas aleatoriamente en diferentes puntos del área seleccionada. Para el muestreo se utilizó una pala de cavar, extrayendo los primeros 20 cm del sedimento en cada una de las seis submuestras. Cada muestra integrada contó con su correspondiente réplica. El objeto de esta metodología fue que el muestreo de las poblaciones de poliquetos fuera representativo de toda el área a evaluar. A su vez, la profundidad establecida para tomar las muestras se determinó en función de cuan profundo pueden enterrar el pico los ostreros al momento de alimentarse.

Cada submuestra fue colocada en una bolsa de polietileno y todas ellas transportadas al laboratorio en heladeras isotérmicas.

En el laboratorio, los organismos fueron separados del sustrato utilizando un tamiz de acero inoxidable de 1000 micrones de tamaño de poro, con ayuda de agua corriente, retirando los individuos manualmente o con pinzas de acero inoxidable. Finalmente los poliquetos de cada muestra integrada fueron enjuagados con agua destilada, contados, sin distinguir entre especies sino formando un *pool* de poliquetos, conservados en bolsas de polietileno debidamente rotuladas y puestos en el freezer a -20 °C hasta su análisis químico. Dado que se pretendía evaluar el contenido total de metales en los organismos tal como son ingeridos por el ostrero pardo, dichos poliquetos fueron procesados sin ser previamente ser colocados por 24 hs en agua de mar del sitio de origen para ser depurados. Cuando se hace esto es para permitir que los gusanos eliminen todo el contenido del tubo digestivo pues se sabe que ello produce una sobreestimación del contenido de metales.

Como se menciona más arriba, el muestreo de huevos de ostrero no fue metódico. Se optó por no recolectar huevos de los nidos para no interferir con el éxito reproductivo de la especie. Durante 2008 se encontraron dos huevos rotos en Villa del Mar y uno en el Islote y en 2009 tres huevos en Puerto Cuatrereros y cinco en el Islote.

Una vez en el laboratorio las cáscaras fueron lavadas con agua destilada, colocadas en bolsas de polietileno con su correspondiente rótulo y conservadas en el freezer a -20 °C hasta su análisis químico.

- **Acondicionamiento del material de trabajo**

Todo el material de laboratorio y de muestreo fue previamente lavado con detergente no iónico, seguido de varios enjuagues con agua de red y finalmente tres lavados con agua destilada. Posteriormente fue colocado en ácido nítrico diluido (0.7% v/v) durante 48-72 hs y luego fue nuevamente enjuagado con agua destilada. Esta metodología es la recomendada por U.S. EPA (Environmental Protection Agency 1979) para evitar la posible contaminación por metales.

- **Determinación analítica de metales pesados en invertebrados bentónicos y cáscaras de huevo de ostreros**

La digestión ácida de las muestras fue realizada siguiendo la metodología descrita por Marcovecchio y Ferrer (2005). Cada muestra contó con un duplicado. Para el caso de las muestras de cangrejos, tanto en el caso de tejido blando como con los huevos, se trabajó con entre 250 y 500 mg de material biológico. Para las muestras con poliquetos se trabajó con 800 mg y para los huevos de ostrero con entre 300 y 400 mg de material. Dado que las muestras de cangrejo (tejido blando y huevos) fueron secadas antes de la mineralización, los resultados obtenidos fueron expresados en μg metal g^{-1} peso seco. Por el contrario, tanto los poliquetos como los huevos de ostrero (sólo la cáscara) se mineralizaron a partir de material húmedo, por lo tanto los resultados obtenidos fueron expresados en μg metal g^{-1} peso húmedo. En todos los casos, las muestras y sus duplicados fueron separadas en dos tubos de ensayo y mineralizadas con 3 ml de ácido nítrico

concentrado (HNO_3 ; 65%) y 1 ml de ácido perclórico concentrado (HClO_4 ; 70-72%). Luego fueron llevadas a un baño térmico de glicerina a una temperatura de 120 ± 10 °C hasta obtener extractos de alrededor de 1 ml (**Figura 5**). Una vez terminada la digestión ácida los extractos fueron transferidos a tubos graduados mediante una pipeta Pasteur y completados con ácido nítrico diluido con agua destilada (0.7%) hasta completar un volumen de 10 ml. La digestión fue realizada por duplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados. Las absorbancias de los extractos obtenidos fueron medidas mediante espectroscopía de absorción atómica (EAA). En cada tanda de lectura se trabajó con dos blancos de reactivo, los cuales fueron tratados de igual forma que las muestras.



Figura 5: Fotografías de la mineralización de las muestras en baño térmico de glicerina. Fotos: Anabela Berazategui.

- Condiciones de lectura para la determinación de metales

El equipo utilizado fue un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 2380, con llama de aire/acetileno y corrección de ruido de fondo con lámpara de deuterio (D₂BGC). Además fueron utilizadas lámparas de cátodo hueco específicas para cada metal. Las condiciones de lectura de cada metal se encuentran detalladas en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Condiciones de lectura fijadas para cada metal

	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	Ni
Longitud de onda (nm)	228.8	357.9	324.7	283.3	213.8	232
Hendidura (nm)	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.2
Energía de la lámpara (mA)	4	27	20	10	17	33
Tipo de llama	Azul oxidante	Amarilla reductora	Azul oxidante	Azul oxidante	Azul oxidante	Azul oxidante

- Límite de detección y sensibilidad

El límite de detección del instrumento (LDI) se define como la mínima concentración que puede ser distinguida de un ensayo en blanco y se obtiene de ensayos de blancos y de estándares. La sensibilidad de un elemento es la concentración que produce una señal de 1% de absorbancia. El límite de detección y la sensibilidad están dados para soluciones de cada metal y a las condiciones estándares de lectura descriptas anteriormente (**Tabla 3**).

Tabla 3. Límite de detección y sensibilidad

Metal	Límite de detección ($\mu\text{g/ml}$ extracto)	Sensibilidad ($\mu\text{g/ml}$ extracto)
Cd	0.001	0.04
Cr	0.003	0.1
Cu	0.02	0.09
Pb	0.07	0.7
Zn	0.015	0.05
Ni	0.05	0.15

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).

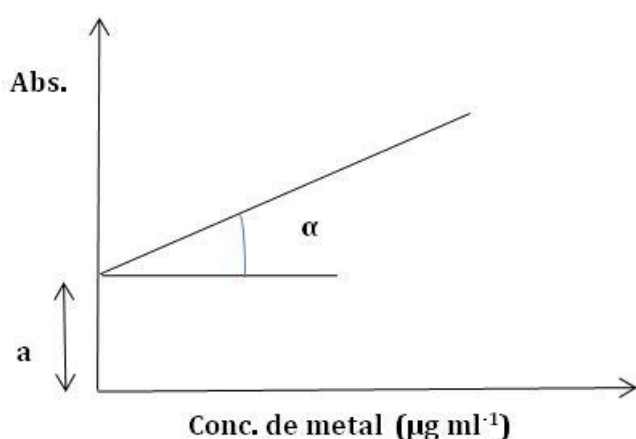
Los LDM utilizados fueron los obtenidos por Botté (2005) para su tesis doctoral. Para el cálculo de estos límites se tomaron en cada caso 12 ensayos de blanco de reactivo sometidos a los mismos pasos de procesamiento de las muestras y se obtuvieron los valores de absorbancia. Con éstas fueron calculadas 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 la matriz analizada se muestran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Límite de detección del método (LDM), según el método aplicado en la matriz analizada

Matriz		Cd	Pb	Cr	Ni	Cu	Zn
Organismos	$\mu\text{g/ml}$	0.01	0.11	0.01	0.08	0.04	0.04
	$\mu\text{g/g}$	0.27	2.15	0.29	1.54	0.77	0.88

- Calibración y cálculos

El cálculo de las concentraciones de los metales fue realizado a partir de una curva de calibración, determinándose la absorbancia de soluciones de estándares de Cobre, Zinc, Níquel, Cadmio, Cromo y Plomo. El rango de concentración de los estándares es tal que se conserva una relación lineal entre su concentración y absorbancia, y se encuentra especificado en el manual del equipo. A partir de los datos obtenidos se calculó para cada tanda de muestras y para cada metal en particular, la recta de regresión como mejor estimador de la curva de calibración.



La concentración de metales en cada muestra de cangrejos expresada en μg de metal por g de muestra seca y de poliquetos y huevos de ostreros expresada en μg de metal por g de muestra húmeda, está dada por la siguiente ecuación:

$$\mu\text{g/g} = \{[(\text{Abs.} - a)/b] \times d\}/p$$

donde:

Abs.= Absorbancia de la muestra

a = ordenada al origen

b= pendiente de la recta de regresión ($\text{tg } \alpha$)

d= volumen final de dilución (ml)

p= peso de muestra (seca o húmeda, según el caso) (g).

La calidad analítica de los datos utilizados para la construcción de las curvas fue evaluada contra Material Certificado de Referencia (*mussel tissue flour* R. M. N°6) provisto por el National Institute for Environmental Studies (NIES), de Tsukuba, (Japón).

- **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se trabajó con los programas SPSS 15.0 y el Infostat 5.1.

Para los cangrejos, la comparación entre sitios y entre estaciones se realizó, para cada uno de los metales estudiados, mediante un ANOVA de

dos factores, previa comprobación de los supuestos de normalidad y homocedasticidad, seguido de comparaciones de a pares (LSD de Fisher) en el caso de encontrar diferencias significativas en alguno de los factores principales. Para evaluar diferencias entre hembras ovígeras y no ovígeras, y entre machos y hembras, se utilizó la prueba t de Student.

Para los poliquetos se utilizó el ANOVA de dos factores, previa comprobación de los supuestos, y se realizaron comparaciones de a pares (LSD de Fisher) en el caso de encontrar diferencias significativas entre estaciones.

IV. RESULTADOS

Dado que el muestreo de invertebrados fue realizado bimestralmente, lo que se decidió al momento del procesamiento de datos fue realizar un análisis estacional.

Tomando en cuenta esto, en la **Tabla 5** se presenta para cada mes muestreado a que estación correspondió para llevar a cabo el análisis de los datos. Viendo la tabla se observa que para el caso del muestreo de poliquetos en la estación de verano el tamaño muestral para PC es de dos y no cuatro como lo fue en VM. Esto se debió a que si bien el muestreo fue realizado en todos los casos de la misma forma, en este caso el pool de poliquetos obtenido luego del tamizado de una de las muestras integradas resultó en un peso muy bajo, de 380 mg, muy inferior al peso requerido para llevar a cabo la mineralización. Por otra parte también se observa que para invierno, el tamaño muestral de cangrejos en PC es dos y no cuatro como en VM. Esto se debió a que para Junio de 2009 no se encontraron cangrejos en el sitio posiblemente debido a que con las bajas temperaturas, los cangrejos se encuentran enterrados muy profundo en las cuevas del cangrejal, lo que dificulta la obtención de la muestra.

Como se comentó en la metodología, el muestreo de invertebrados bentónicos en IP fue realizado al año siguiente del muestreo de VM y PC. Por otra parte, como se observa en la **Tabla 5**, no se obtuvieron muestras para la estación de invierno. Por estos dos motivos, lo que se decidió hacer fue un primer análisis para VM y PC, y posteriormente repetir el análisis,

pero esta vez considerando sólo las estaciones en las que coincidieron los tres sitios (primavera, verano y otoño), tanto para tejido blando de cangrejos como para poliquetos. Para los huevos de cangrejos, dado que fue sólo un análisis descriptivo y que las estaciones muestreadas coincidieron para los tres sitios, se decidió hacer un único análisis considerando los tres sitios.

Tabla 5: Fechas de muestreo y estación asociada, con determinación (para cada estación y sitio correspondiente) del tamaño muestral (n) tanto para cangrejos como para poliquetos

Fechas de muestreo	Sitio	Estación	n (estacional)	
			Cangrejos ^a	Poliquetos ^b
Octubre '08	VM	Primavera	2	2
	PC		2	2
Octubre '10 Noviembre '10	IP		4	4
Diciembre '08	VM	Verano	4	2
Febrero '09	PC		4	2 (sin datos Feb)
Marzo '10 (x2)	IP		4	4
Abril '09	VM	Otoño	2	2
	PC		2	2
Abril '10	IP		2	2
Junio '09	VM	Invierno	4	4
Agosto '09	PC		2 (sin datos junio)	4

a: El tamaño muestral en cada sitio proviene de *pooles* de entre 5 y 6 individuos de cada sexo.

b: El tamaño muestral proviene de dos muestras integradas, cada una con seis submuestras, formadas por *pooles* de poliquetos

VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

- ***Tejido blando de cangrejos***

Análisis para Villa del Mar y Puerto Cuatrerros

Para el caso de los cangrejos, el primer análisis realizado fue testear si existían diferencias significativas entre hembras ovígeras y no ovígeras para cada uno de los metales. Para el Cu, Cd, Ni y Zn las diferencias fueron no significativas (t de Student: $p=0.18, 0.37, 0.12$ y 0.97 respectivamente). A partir de este resultado se decidió unir ambas hembras en único grupo de hembras para los próximos análisis. Posteriormente se analizó la posible diferencia entre machos y hembras para cada metal. Para los cuatro metales (Cu, Cd, Ni y Zn) no se hallaron diferencias significativas (t de Student: $p=0.55, 0.73, 0.90$ y 0.10 respectivamente). Por este motivo se unieron hembras y machos en un único grupo de cangrejos para los siguientes análisis. Para el Pb y Cr, debido al alto número de valores no detectables, estos dos análisis no pudieron ser llevados a cabo. Sin embargo también se decidió unir machos y hembras en ambos metales. Si bien los ostreros se alimentan de ambos sexos sobre esta especie (Bachmann 1995), con lo cual este análisis no era indispensable, se decidió hacerlos para descartar una variabilidad asociada a una posible bioacumulación diferencial debido al sexo.

A partir de estos resultados se testearon las posibles diferencias significativas entre sitios y estaciones para los cuatro metales, probando, a su vez, la posible interacción entre ambos factores.

Para el caso del Cu, no se halló una interacción significativa entre sitios y estaciones así como tampoco una diferencia significativa entre sitios. Por otra parte se hallaron diferencias significativas entre estaciones, siendo menores las mediciones para el invierno en relación con el resto de las estaciones. Los resultados del ANOVA se presentan en la **Tabla 6**. En esta tabla también se observan los resultados de las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 6: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cu en tejido blando de *Neohelice granulata* y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Sitio	17.25	1	17.25	0.05	0.8204
Estación	12716.78	3	4238.93	13.15	0.0002*
Estación x Sitio	1156.1	3	385.37	1.2	0.3474
Error	4513.07	14	322.36		
Total	18181.37	21			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	146.53	4	8.98	A
Verano	152.18	8	6.35	A
Otoño	149.74	4	8.98	A
Invierno	93.97	6	7.77	B

Sitio	Medias	n	ES
VM	130.95	12	25.16
PC	141.27	10	34.37

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatros

Para el Cd se obtuvieron resultados similares al Cu respecto de la interacción, los sitios y las estaciones. Nuevamente los niveles de Cd en invierno fueron significativamente menores que el resto de las estaciones. Los resultados del ANOVA se observan en la **Tabla 7**. Al igual que para el Cu, también se observan los resultados de las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 7: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cd en tejido blando de *Neohelice granulata* y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Sitio	4.54	1	4.54	1.2	0.2925
Estación	67.07	3	22.36	5.9	0.0081*
Estación x Sitio	3.34	3	1.11	0.29	0.8294
Error	53.09	14	3.79		
Total	128.79	21			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	9.11	4	0.97	A
Verano	10.41	8	0.67	A
Otoño	9.14	4	0.97	A
Invierno	5.88	6	0.84	B

Sitio	Medias	n	ES
PC	8.44	10	2.33
VM	9.04	12	2.66

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatreceros

El Ni presentó un comportamiento similar al Cu y el Cd respecto de la interacción, los sitios y las estaciones, donde, una vez más, la interacción y la diferencia entre sitios fue no significativa, mientras que se halló nuevamente que el invierno fue significativamente menor que el resto de las estaciones. Los resultados del ANOVA se presentan en la **Tabla 8**. También se presentan los resultados de las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 8: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Ni en tejido blando de *Neohelice granulata* y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	188.37	3	62.79	12.78	0.0003*
Sitio	0.28	1	0.28	0.06	0.8141
Estación x Sitio	0.42	3	0.14	0.03	0.9931
Error	68.78	14	4.91		
Total	273.92	21			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	17.64	4	1.11	B
Verano	15.85	8	0.78	B
Otoño	15.42	4	1.11	B
Invierno	9.54	6	0.96	A

Sitio	Medias	n	ES
VM	14.1	12	3.93
PC	14.71	10	3.36

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatros

Para el caso del Zn, si bien tanto la interacción como la diferencia entre sitios resultó no significativa como en el Cu, Cd y Ni, la estacionalidad difirió parcialmente del resto de los metales ya que si bien también se obtuvieron diferencias significativas entre estaciones, en este caso la primavera y el invierno fueron significativamente menores que el verano y el otoño. Los resultados del ANOVA se presentan en la **Tabla 9**. También se

presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 9: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Zn en tejido blando de *Neohelice granulata* y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	153.3	3	51.1	7.85	0.0026*
Sitio	9.85	1	9.85	1.51	0.239
Estación x Sitio	5.37	3	1.79	0.27	0.8426
Error	91.14	14	6.51		
Total	277.09	21			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	31.4	4	1.28	A
Verano	36.36	8	0.9	B
Otoño	37.05	4	1.28	B
Invierno	31.07	6	1.1	A

Sitio	Medias	n	ES
VM	33.15	12	3.08
PC	35.18	10	4.09

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros

Tanto el Pb como el Cr estuvieron por debajo del límite de detección en la mayoría de las muestras, excepto en primavera en ambos sitios. Por

este motivo no fue posible llevar a cabo un análisis estadístico en ambos metales.

En la **Figura 6 (A y B)** se observa el comportamiento de los 4 metales en el tejido blando de *N. granulata* a lo largo de las estaciones. En la misma se puede observar que el comportamiento de los metales en ambos sitios de muestreo resultó semejante, coincidiendo con el análisis estadístico llevado a cabo. En las **Fig. 6A y 6B** se observa un patrón estacional donde el invierno presenta las concentraciones más bajas en los 4 metales analizados, lo que nuevamente quedó estadísticamente comprobado. Si bien el Cd en primavera (**Fig. 6A**) pareciera presentar un comportamiento distinto dentro de cada sitio, donde para VM habría una mayor diferencia entre las concentraciones de primavera y verano que para PC, el análisis estadístico no detectó ni interacción significativa ni diferencia entre sitios. Para el caso del Zn (**Fig. 6B**) nuevamente la primavera, esta vez en ambos sitios, presenta una disminución en la concentración, con niveles semejantes a los de invierno. El análisis estadístico llevado a cabo confirmó esta disminución, resultando estas dos estaciones, para ambos sitios, las de significativamente menores concentraciones.

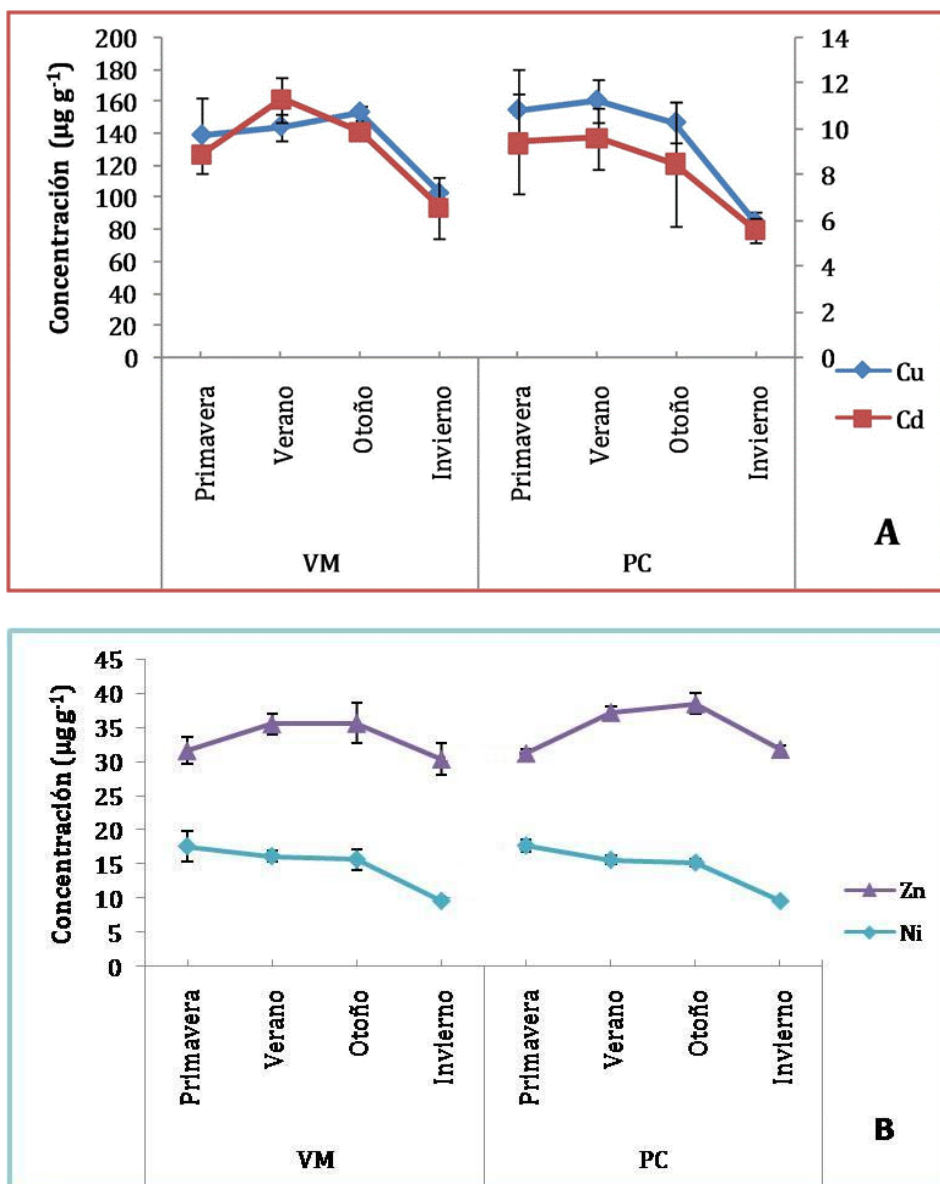


Figura 6: Variación estacional de los niveles de Cu y Cd (A) y de Ni y Zn (B) (valor medio \pm error estándar; $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) en tejido blando del cangrejo *Neohelice granulata* de Villa del Mar (VM) y Puerto Cuatrerros (PC).

Análisis para Villa del Mar, Puerto Cuatrerros e Islote del Puerto

Dada la falta de concordancia en las fechas de muestreo entre VM y PC respecto de IP, así como la falta de datos de invierno para IP, se decidió llevar adelante un nuevo análisis, esta vez comparando los tres sitios frente a las tres estaciones muestreadas (primavera, verano y otoño).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para VM y PC respecto de la diferencia entre hembras ovígeras y no ovígeras y entre machos y hembras, para este análisis se trabajó uniendo ambas hembras y ambos sexos también en IP.

Los resultados obtenidos para el Cu y Cd fueron similares, no hallándose ninguna diferencia significativa, ni para la interacción ni para ninguno de los dos factores. Los resultados del ANOVA se presentan en las **Tabla 10** y **11**. Dado que no encontraron diferencias significativas para ninguno de los dos factores, se presentan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las tres estaciones y los tres sitios.

Tabla 10: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cu en tejido blando de *Neohelice granulata*. Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	1008.56	2	504.28	1.13	0.3447
Sitio	2262.49	2	1131.24	2.55	0.1079
Estación x Sitio	1261.34	4	315.33	0.71	0.5965
Error	7555.06	17	444.42		
Total	13194.71	25			

Sitio	Medias	n	ES
IP	130.05	10	26.7
VM	145.01	8	12.8
PC	155.32	8	19.71

Estación	Medias	n	ES
Primavera	129.6	8	25.58
Otoño	143.98	6	16.91
Verano	150.2	12	21.59

VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Tabla 11: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cd en tejido blando de *Neohelice granulata*. Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	11.11	2	5.56	2.49	0.113
Sitio	5.91	2	2.96	1.32	0.2926
Estación x Sitio	5.19	4	1.3	0.58	0.6808
Error	38.01	17	2.24		
Total	67.55	25			

Sitio	Medias	n	ES
IP	8.72	10	1.47
PC	9.23	8	1.83
VM	10.31	8	1.38

Estación	Medias	n	ES
Primavera	8.37	8	1.25
Otoño	9.16	6	1.46
Verano	10.13	12	1.67

VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Para el caso del Ni, si bien no se hallaron diferencias significativas ni para la interacción ni para las estaciones, sí se hallaron para los sitios. En

este caso se observó que los niveles de Ni en los cangrejos de IP fueron significativamente menores que los niveles de los cangrejos de VM y PC. Los resultados del ANOVA se presentan en la **Tabla 12**. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para los sitios y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 12: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Ni en tejido blando de *Neohelice granulata* y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para sitios. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	8.22	2	4.11	0.96	0.4022
Sitio	666.82	2	333.41	77.98	<0.0001*
Estación x Sitio	6.14	4	1.54	0.36	0.8342
Error	72.68	17	4.28		
Total	812.42	25			

Sitio	Medias	n	ES	
IP	5.33	10	0.69	A
PC	16.15	8	0.77	B
VM	16.46	8	0.77	B

Estación	Medias	n	ES
Primavera	11.44	8	6.72
Otoño	12.08	6	5.65
Verano	12.35	12	5.5

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Cuando se analizó el comportamiento del Zn, se halló que los niveles en cangrejos también fueron significativamente menores en IP que en VM y PC. Pero esta vez se detectó además una diferencia significativa entre estaciones, siendo los niveles en primavera significativamente menores que en verano y otoño. Los resultados del ANOVA se presentan en la **Tabla 13**. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y los sitios y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 13: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Zn en tejido blando de *Neohelice granulata* y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones y sitios. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	97.4	2	48.7	9.54	0.0017*
Sitio	86.9	2	43.45	8.51	0.0028*
Estación x Sitio	15.71	4	3.93	0.77	0.56
Error	86.81	17	5.11		
Total	322.38	25			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	30.72	8	0.84	A
Verano	34.7	12	0.65	B
Otoño	35.59	6	0.92	B

Sitio	Medias	n	ES	
IP	31.14	10	0.75	A
VM	34.24	8	0.84	B
PC	35.63	8	0.84	B

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Los niveles de Pb hallados en los cangrejos de IP fueron detectables en las tres estaciones, a diferencia de lo ocurrido con VM y PC, donde sólo se hallaron niveles detectables en primavera.

Para el Cr, los cangrejos de IP presentaron niveles por debajo del límite de detección en las tres estaciones, mientras que los cangrejos de VM y PC presentaron valores detectables sólo en primavera.

La **Figura 7 (A y B)** muestra el comportamiento del Cu, Cd, Zn, Ni y Pb en las estaciones muestreadas en los tres sitios. Al haber incorporado al análisis este tercer sitio (IP), los resultados obtenidos respecto de la estacionalidad se mantuvieron similares a los obtenidos previamente para VM y PC. Es decir que las concentraciones de los distintos metales en los cangrejos de los tres sitios presentaron el mismo comportamiento en las tres estaciones analizadas. Sin embargo, si bien entre los cangrejos de VM y PC no se detectaron diferencias significativas para los niveles de Cu, Cd, Zn y Ni, los niveles de Zn y Ni en los cangrejos de IP fueron significativamente menores que en los otros dos sitios (**Fig. 7B**). Como se menciona más arriba, si bien los niveles de Pb en cangrejos de VM y PC resultaron detectables sólo

en primavera, en la **Fig. 7B** se observa que en IP los niveles fueron detectables en las tres estaciones muestreadas.

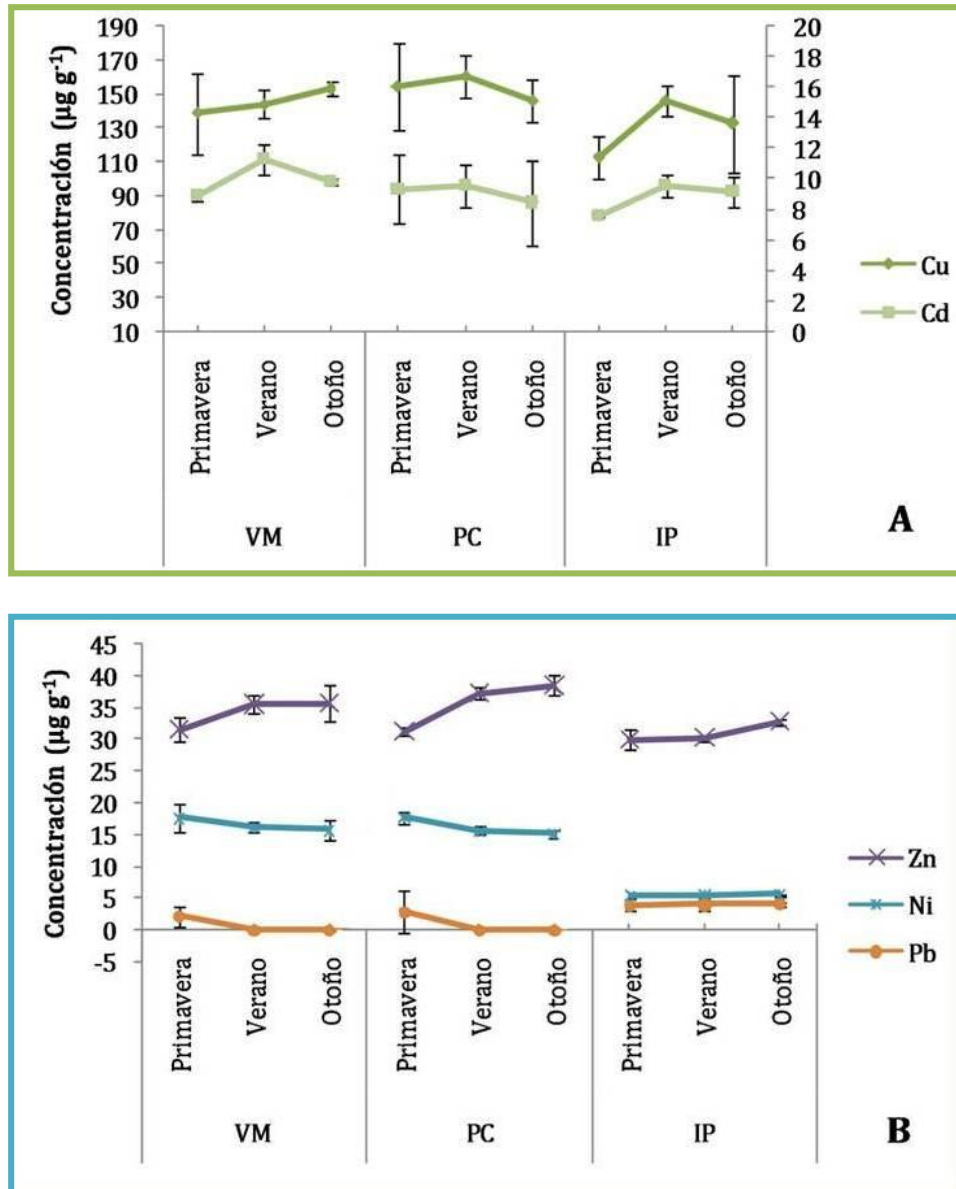


Figura 7: Variación estacional de los niveles de Cu y Cd (A) y de Ni, Zn y Pb (B) (valor medio \pm error estándar; $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) en tejido blando del cangrejo *N. granulata* de Villa del Mar (VM), Puerto Cuatreros (PC) e Islote del Puerto (IP).

- ***Huevos de cangrejo***

Si bien el muestreo de cangrejos fue desde octubre de 2008 hasta agosto de 2009 para VM y PC, y desde marzo a noviembre de 2010 para IP, las hembras ovígeras fueron halladas sólo en primavera y verano en los tres sitios (Primavera: VM octubre de 2008, PC octubre de 2008, IP octubre y noviembre de 2010; Verano: VM diciembre de 2008, PC diciembre de 2008 y febrero de 2009, IP marzo de 2010). Por esto motivo, y a pesar de que si bien cada muestra de huevos se obtuvo a partir del pool de huevos de entre 3 y 4 hembras ovígeras, no fue posible realizar un análisis estadístico debido al bajo tamaño muestral. En la **Tabla 14** se muestra la concentración de los 6 metales halladas en huevos y se compara con los niveles hallados en las hembras para las mismas estaciones.

Las concentraciones de Cu, Cd, Ni, y Pb halladas en los huevos fueron en todos los casos inferiores a los niveles detectados en hembras; más aún para el Cu se observa que los niveles en hembras fueron dos órdenes de magnitud superiores a los niveles en huevos. Por el contrario, los niveles de Zn detectados en huevos fueron en todos los casos superiores a los niveles en hembras. El Cr, a diferencia del resto de los metales, fue no detectable en ambas estaciones y en los tres sitios. Si bien es posible notar un leve aumento de los niveles de los metales en huevos en el verano respecto de la primavera (a excepción del Pb), para poder afirmar esto sería necesario un mayor tamaño muestral que permita analizar estadísticamente ese posible aumento hacia el verano.

Tabla 14: Concentración de metales ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) (valor medio \pm DS) en huevos y hembras de cangrejos *N. granulata* de acuerdo al sitio y estación

Metal	Sitio	Tejido	Estación	
			Primavera	Verano
Cu	VM	Hembras	121.91 \pm 19.70	143.39 \pm 1.33
		Huevos	38.36*	64.23*
	PC	Hembras	136.07 \pm 19.29	151.14 \pm 9.12
		Huevos	63.72*	61.85 \pm 4.47
	IP	Hembras	105.72 \pm 0.90	122.05 \pm 8.39
		Huevos	46.48 \pm 7.25	63.22*
Cd	VM	Hembras	9.04 \pm 0.74	12.07 \pm 0.55
		Huevos	ND	7.38*
	PC	Hembras	7.79 \pm 0.59	8.61 \pm 0.19
		Huevos	5.72*	6.71 \pm 1.21
	IP	Hembras	7.04 \pm 0.18	8.90 \pm 1.03
		Huevos	5.87 \pm 0.38	6.42*
Cr	VM	Hembras	0.66 \pm 0.40	ND
		Huevos	ND	ND
	PC	Hembras	1.93 \pm 0.03	ND
		Huevos	ND	ND
	IP	Hembras	ND	ND
		Huevos	ND	ND
Zn	VM	Hembras	33.83 \pm 3.44	34.30 \pm 0.89
		Huevos	44.68*	51.33*
	PC	Hembras	35.01 \pm 0.89	35.21 \pm 0.41
		Huevos	53.00*	54.07 \pm 4.35
	IP	Hembras	30.02 \pm 0.003	30.66 \pm 0.02
		Huevos	45.79 \pm 0.70	56.24*
Ni	VM	Hembras	15.84 \pm 2.17	13.59 \pm 0.97
		Huevos	0.65*	6.13*
	PC	Hembras	18.60 \pm 0.54	13.81 \pm 0.20
		Huevos	3.83*	4.57 \pm 0.67
	IP	Hembras	4.80 \pm 0.22	5.19 \pm 0.26
		Huevos	1.51 \pm 0.20	3.53*
Pb	VM	Hembras	3.18 \pm 2.98	ND
		Huevos	2.04	ND
	PC	Hembras	4.66 \pm 0.85	ND
		Huevos	2.47	ND
	IP	Hembras	3.26 \pm 0.26	3.90 \pm 1.05
		Huevos	ND	ND

VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto; ND: No detectable

* Concentraciones sin desvío estándar por ser una única muestra proveniente de un *pool* de huevos de entre 3 y 4 hembras ovígeras.

- ***Poliquetos***

Análisis para Villa del Mar y Puerto Cuatrerros

De los seis metales medidos en los poliquetos, sólo tres de ellos fueron detectables: Cu, Cd y Zn. En los otros tres metales, los niveles estuvieron, para todas las estaciones y ambos sitios, por debajo del límite de detección.

Es importante aclarar que si bien la determinación de metales no fue en una única especie sino en *pooles* de poliquetos, la especie que se caracteriza por ser la más abundante en el estuario es *Laeonereis acuta*, perteneciente a la familia Nereididae (Elías y Ieno 1993, Palomo et al. 2004). Esta especie resultó ser proporcionalmente mayor en todas las muestras. Otras especies encontradas, en muy baja proporción, fueron: *Glycera americana*, *Thelepus plagiostoma*, *Scoloplos sp*, *Eteone sp*.

Para el caso del Cu se obtuvieron diferencias significativas tanto entre sitios como entre estaciones. Los niveles de Cu en poliquetos fueron significativamente mayores en VM que en PC; a su vez las concentraciones estacionales presentaron el siguiente comportamiento: Primavera = Verano > Otoño > Invierno. En la **Tabla 15** se presentan los resultados obtenidos en el ANOVA. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 15: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cu en *pooles* de poliquetos y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones y sitios. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	15.08	3	5.03	26.05	<0.0001*
Sitio	1.92	1	1.92	9.95	0.007*
Estación x Sitio	1.02	3	0.34	1.76	0.2014
Error	2.7	14	0.19		
Total	22.24	21			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	3.9	4	0.22	A
Verano	3.68	6	0.19	A
Otoño	2.67	4	0.22	B
Invierno	1.92	8	0.16	C

Sitio	Medias	n	ES	
PC	2.73	10	0.15	A
VM	3.36	12	0.13	B

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatros

Para el Cd se obtuvieron diferencias significativas únicamente entre estaciones. En este caso, si bien, al igual que para el Cu las mayores concentraciones fueron en primavera y verano, los niveles de Cd en poliquetos en el otoño fueron significativamente menores que en el invierno, al revés que para el Cu. En la **Tabla 16** se observan los resultados obtenidos en el ANOVA. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de

Fisher) para las estaciones y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 16: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cd en *pooles* de poliquetos y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	0.97	3	0.32	11.29	0.0005*
Sitio	0.01	1	0.01	0.24	0.63
Estación x Sitio	0.14	3	0.05	1.59	0.2354
Error	0.4	14	0.03		
Total	1.61	21			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	1.23	4	0.08	A
Verano	1.11	6	0.07	A
Invierno	0.85	8	0.06	B
Otoño	0.61	4	0.08	C

Sitio	Medias	n	ES
VM	0.96	12	0.29
PC	0.96	10	0.28

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros

Finalmente para el Zn, a diferencia del Cu y el Cd, no se obtuvieron diferencias significativas para ninguno de los dos factores analizados. Los resultados del ANOVA se observan en la **Tabla 17**. Dado que no encontraron diferencias significativas para ninguno de los dos factores, se presentan los

valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las tres estaciones y los dos sitios.

Tabla 17: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Zn en *pooles* de poliquetos y valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	0.41	3	0.14	0.76	0.5349
Sitio	0.56	1	0.56	3.15	0.0977
Estación x Sitio	0.17	3	0.06	0.32	0.8099
Error	2.5	14	0.18		
Total	3.77	21			

Estación	Medias	n	ES
Otoño	7.29	4	0.24
Invierno	7.66	8	0.6
Verano	7.42	6	0.36
Primavera	7.68	4	0.19

Sitio	Medias	n	ES
VM	7.26	12	0.44
PC	7.62	10	0.32

VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros

En la **Figura 8** se presenta la variación estacional de los tres metales analizados en los dos sitios de muestreo. El Zn permanece relativamente constante a lo largo de las estaciones en ambos sitios; por otra parte el Cu presenta una disminución desde la primavera hacia el invierno; finalmente el Cd presenta una disminución más marcada en el otoño. Lo que se observa

en la figura para estos tres metales coincide con los resultados obtenidos con el análisis estadístico.

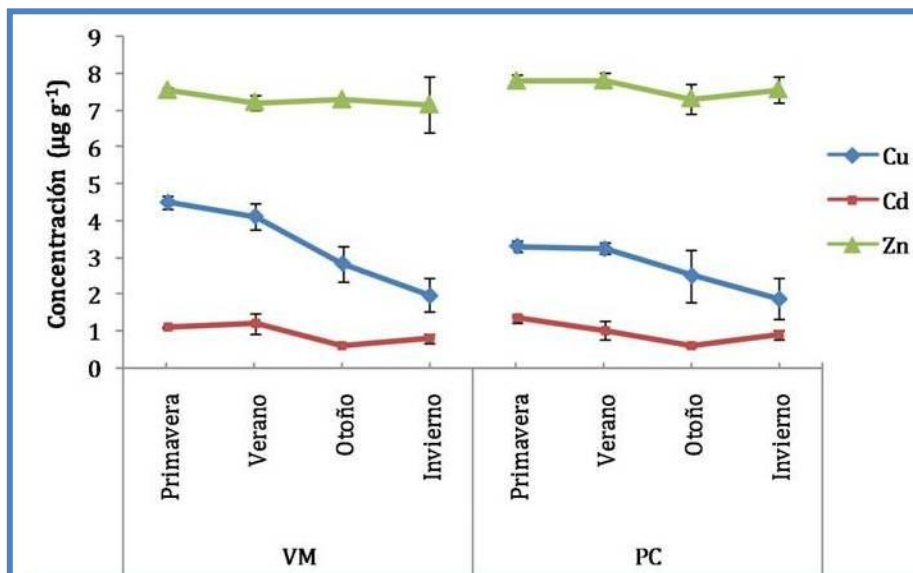


Figura 8: Variación estacional de los niveles Cu, Cd y Zn (valor medio \pm error estándar; $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo) en poliquetos en Villa del Mar (VM) y Puerto Cuatrerros (PC).

Análisis para Villa del Mar, Puerto Cuatrerros e Islote del Puerto

Al igual que lo sucedido con los cangrejos, dada la falta de concordancia en las fechas de muestreo entre VM y PC respecto de IP, así como la falta de datos de invierno para IP, se decidió llevar adelante un nuevo análisis, esta vez comparando los tres sitios frente a las tres estaciones muestreadas (primavera, verano y otoño).

Nuevamente para el Cu se obtuvieron diferencias significativas tanto entre sitios como entre estaciones. Esta vez, los mayores niveles de Cu en poliquetos se hallaron en IP, seguidos de VM y finalmente PC. Respecto de

la estacionalidad, primavera y verano fueron nuevamente las estaciones con mayores concentraciones. En la **Tabla 18** se presentan los resultados obtenidos en el ANOVA. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y los sitios y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 18: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cu en *pooles* de poliquetos y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones y sitios. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	6.48	2	3.24	21.62	<0.0001*
Sitio	17.78	2	8.89	59.32	<0.0001*
Estación x Sitio	0.56	4	0.14	0.94	0.4678
Error	2.25	15	0.15		
Total	31.8	23			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	4.57	8	0.14	A
Verano	4.23	10	0.13	A
Otoño	3.21	6	0.16	B

Sitio	Medias	n	ES	
IP	5.17	10	0.13	A
VM	3.82	8	0.14	B
PC	3.02	6	0.16	C

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Para el Cd se obtuvieron diferencias significativas únicamente entre estaciones. En la **Tabla 19** se observan los resultados obtenidos en el ANOVA. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para las estaciones y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y los sitios.

Tabla 19: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Cd en *pooles* de poliquetos y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para estaciones. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	1.41	2	0.71	11.72	0.0009*
Sitio	0.02	2	0.01	0.16	0.8495
Estación x Sitio	0.69	4	0.17	2.87	0.0598
Error	0.91	15	0.06		
Total	3.28	23			

Estación	Medias	n	ES	
Primavera	1.11	8	0.09	A
Verano	1.26	10	0.08	A
Otoño	0.64	6	0.1	B

Sitio	Medias	n	ES
PC	0.99	6	0.35
VM	1.04	8	0.32
IP	1.11	10	0.46

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Finalmente, para el Zn, si bien al igual que cuando se compararon VM y PC, no se hallaron diferencias significativas entre estaciones, esta vez sí se hallaron diferencias entre sitios, siendo los niveles de Zn en poliquetos de IP significativamente mayores a los de VM y PC. Los resultados del ANOVA se presentan en la **Tabla 20**. También se presentan las comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para los sitios y además se observan los valores medios, los errores estándar y el tamaño muestral para las estaciones y sitios.

Tabla 20: Resultados del ANOVA de dos factores (sitio y estación) para el Zn en *pooles* de poliquetos y comparaciones de a pares (LSD de Fisher) para sitios. * Diferencias significativas ($p < 0.05$). Valores medios, error estándar (ES) y tamaño muestral (n) para estaciones y sitios. (Medias y ES en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo).

FV	SC	gl	CM	F	Sign.
Estación	0.17	2	0.09	0.12	0.8843
Sitio	61.64	2	30.82	43.81	<0.0001*
Estación x Sitio	0.62	4	0.16	0.22	0.9221
Error	10.55	15	0.7		
Total	77.64	23			

Sitio	Medias	n	ES	
IP	10.87	10	0.28	A
PC	7.65	6	0.34	B
VM	7.34	8	0.31	B

Estación	Medias	n	ES
Otoño	8.38	6	2.03
Verano	8.7	10	1.81
Primavera	9.09	8	1.9

Letra distinta entre niveles del factor implica diferencias significativas (LSD Fisher, $p < 0.05$). VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros; IP: Islote del Puerto

Al igual que para VM y PC, los niveles de Ni, Cr y Pb en poliquetos de IP estuvieron, para todas las estaciones y ambos sitios, por debajo del límite de detección.

En la **Figura 9** se presenta el comportamiento del Cu, Cd y Zn en las estaciones muestreadas en los tres sitios. Al haber incorporado al análisis este tercer sitio (IP), los resultados obtenidos respecto de la estacionalidad se mantuvieron similares a los obtenidos previamente para VM y PC. Es decir que las concentraciones de los distintos metales en los poliquetos de los tres sitios presentaron el mismo comportamiento en las tres estaciones analizadas. Respecto a las diferencias entre sitios, se observa que los niveles de Cu y de Zn hallados en los poliquetos de IP fueron superiores a los de VM y PC, lo que quedó demostrado al hacer el análisis estadístico.

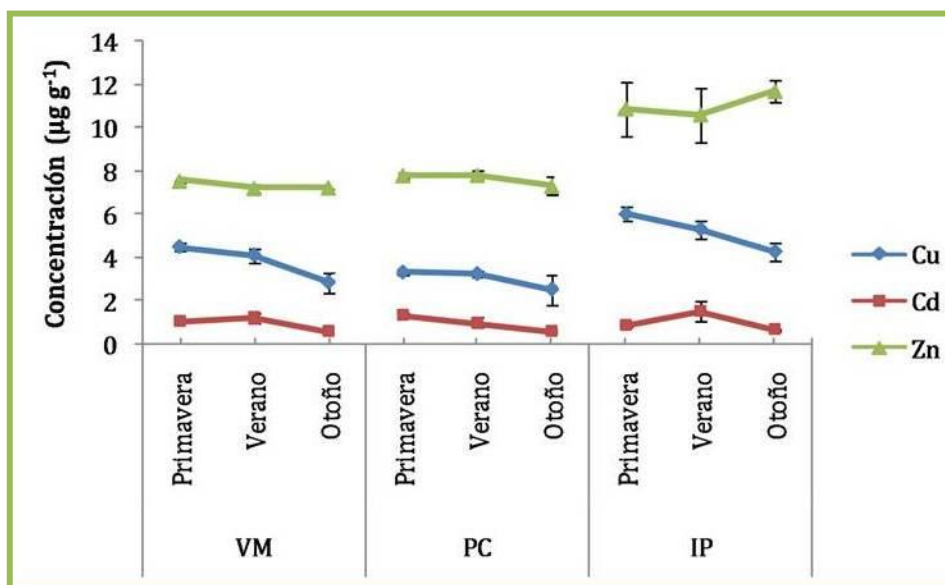


Figura 9: Variación estacional de los niveles Cu, Cd y Zn (valor medio \pm error estándar; $\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo) en poliquetos en Villa del Mar (VM), Puerto Cuatrerros (PC) e IP (Islote del Puerto).

- ***Huevos de ostrero***

Durante los dos años de muestreo sólo fue posible obtener un bajo número de huevos en cada sitio. Esto se debió a que se decidió no interferir en el éxito reproductivo de la especie. De esta forma los únicos huevos que se tomaron fueron aquellos que se encontraban rotos o aquello que se podía determinar que eran estériles. Como consecuencia se obtuvieron para el IP dos en 2008 y cinco en 2009, para VM sólo dos en 2008 y para PC sólo tres en 2009. Sobre las cáscaras de éstos se midieron los seis metales pesados. El valor promedio de cada uno de los metales de los tres sitios se presenta en la **Tabla 21**.

Tabla 21: Concentración de metales ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo) (valor medio \pm DS) en cáscaras de huevos de ostreros

Metal	Sitio		
	Villa del Mar	Puerto Cuatrerros	Islote
Cu	1.88 \pm 0.04	2.39 \pm 0.37	1.87 \pm 0.61
Cd	12.62 \pm 3.81	12.41 \pm 3.48	13.91 \pm 3.69
Cr	0.77 \pm 0.02	0.77 \pm 0.03	0.79 \pm 0.04
Zn	1.19 \pm 0.08	2.13 \pm 1.09	2.61 \pm 1.21
Ni	5.77 \pm 0.53	5.93 \pm 0.20	6.20 \pm 1.21
Pb	7.75 \pm 1.90	6.79 \pm 1.87	7.29 \pm 2.92

V. DISCUSSION

Conocer los niveles de metales pesados en invertebrados bentónicos como los poliquetos y los cangrejos es de suma importancia ya que estos organismos pueden ser utilizados como bioindicadores de contaminación ambiental en los ambientes marinos y costeros (Depledge y Fossi 1994, Giangrande et al. 2005, Markert 2007, Zhou et al. 2008, Monserrat Sole et al. 2009). A su vez, por pertenecer a los eslabones inferiores de la cadena trófica, potencialmente pueden transferir algunos metales a los eslabones superiores de la cadena. Si bien no existe una regla particular para la biomagnificación de metales pesados ya que cada metal tiene un determinado comportamiento en los distintos niveles de la cadena, se ha observado que algunos de ellos pueden ir aumentando su concentración de un nivel a otro. Dado que estos invertebrados habitan en los intermareales, son un componente primordial en la dieta de diversas aves costeras, tanto residentes como migratorias (Pienkowsky 1983; Boates y Goss-Custard 1989; Castro y Myers 1993; Botto et al. 1998, 2000; Mendonça et al. 2007). Las aves costeras son uno de los más importantes consumidores de las comunidades de invertebrados intermareales debido a sus altos requerimientos energéticos, principalmente en las aves migratorias, que pueden llegar a recorrer hasta 30.000 Km por año (Hernández y Bala 2007, Mendonça et al. 2007). Durante la primavera boreal, cientos de aves costeras migratorias (*Arenaria interpres*, *Calidris pusilla*, *C. canutus* *C. alba*) se alimentan en el intermareal de la Bahía de Delaware, Estados Unidos, principalmente de huevos del cangrejo cacerola, *Limulus*

polyphemus (Castro y Myers 1993). En la costa patagónica las gaviotas por ejemplo, que son un componente importante de la comunidad de aves, se alimentan en la zona intermareal de una gran variedad de presas, principalmente invertebrados marinos y peces (Bertellotti et al. 2003).

En este estudio se decidió determinar los niveles de algunos metales pesados en dos invertebrados bentónicos: el cangrejo excavador *Neohelice granulata*, y los poliquetos, sin hacer distinción entre especies. La elección de estos invertebrados está relacionada con que por ser organismos que se encuentran presentes en los intermareales del estuario de Bahía Blanca y por ser abundantes, son fuente de alimento de numerosas aves costeras, tanto migratorias como residentes, en particular, el ostrero pardo (*Haematopus palliatus*) que se alimenta en estas áreas durante todo el año (Botto et al. 1998, 2000; Petracci et al. 2004, 2007).

A su vez se decidió determinar los niveles de estos mismos metales en cáscaras de huevos del ostrero pardo por formar parte de los eslabones superiores de la cadena trófica, y por ser un estimador indirecto de la cantidad de metales que pueden estar incorporando las hembras de la especie en el estuario.

Como se mencionó anteriormente, los tres sitios seleccionados para el muestreo de invertebrados, Villa del Mar, Puerto Cuatros e Islote del Puerto, fueron aquellos mismos sitios donde se realizó el estudio de la biología reproductiva y la selección de sitios de nidificación del ostrero pardo.

Al analizar la concentración de metales entre machos y hembras de cangrejos, no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los metales en ninguno de los tres sitios estudiados. Si bien los ostreros se alimentan de ambos sexos, este análisis se hizo para descartar una variabilidad asociada a una posible bioacumulación diferencial debido al sexo, dado que este es un factor biológico intrínseco que puede influir en la concentración de metales pesados en cangrejos (Devoscovi y Lucu 1995, Swaileh y Adelung 1995, MacFarlane et al. 2000, Turoczy et al. 2001, Barrento et al. 2009).

Al medir las concentraciones de los distintos metales en el tejido blando de los cangrejos de los tres sitios, se hallaron niveles por encima del límite de detección para Cu, Cd, Zn y Ni a lo largo de todas las estaciones muestreadas. Por otra parte, el Zn y el Ni presentaron concentraciones significativamente menores en el Islote que en los otros dos sitios. A diferencia de estos cuatro metales, los niveles hallados para Cr resultaron por debajo del límite de detección en todas las estaciones en el Islote mientras que en Villa del Mar y Puerto Cuatrerros este metal fue detectable solamente en primavera. Haciendo el mismo análisis para el Pb, en este caso se observó que el Islote presentó niveles detectables en las tres estaciones muestreadas (primavera, verano y otoño) mientras que en los otros dos sitios fue sólo detectable durante la primavera.

Si bien en este trabajo no fueron medidos los metales pesados en sedimentos, es posible tomar como referencia las concentraciones

informadas en esta matriz por Botté et al. (2009) trabajando en Puerto Cuatrerros, Hempel et al. (2008) trabajando en Villa del Mar así como algunos datos aún sin publicar de Ing. White (donde se encuentra el Islote del Puerto) tomados por personal del Laboratorio de Química Marina del IADO. Estos resultados se presentan en la **Tabla 22**.

Lo primero que se puede observar en la **Tabla 22** es que los niveles de Cu hallados en el tejido blando de cangrejos resultaron entre uno y dos órdenes de magnitud superiores a los hallados en los sedimentos de los tres sitios. Es importante destacar que este es un metal esencial para los crustáceos decápodos, siendo una parte integral del pigmento respiratorio hemocianina (Rainbow 1997). Estudios previos han mostrado que este metal no se acumula sino que es regulado hasta cierto valor umbral de exposición a partir del cual comienza a acumularse proporcionalmente a los niveles externos (White y Rainbow 1982, 1987; Rainbow y White 1989; MacFarlane et al. 2000; Rainbow 2002). White y Rainbow (1982) encontraron que las concentraciones de Cu en el camarón *Palaemon elegans* eran reguladas manteniendo niveles cercanos a $110 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco hasta un determinado nivel de exposición a partir del cual dejaban de regular para empezar a acumular. MacFarlane et al. (2000), trabajando con el cangrejo semáforo, *Heloecius cordiformis*, encontraron que el Cu era regulado a concentraciones entre 200 y $600 \mu\text{g g}^{-1}$ de peso húmedo a hasta un cierto valor umbral (no informado). A pesar de existir en la bibliografía estudios sobre ecotoxicología de Cu en *N. granulata* (López Greco et al. 2001; Zapata et al. 2001; Lavolpe

et al. 2004; Medesani et al. 2004a, b), al día de la fecha, aún es desconocido cual es el valor umbral para el Cu en esta especie.

Teniendo en cuenta que *N. granulata* se alimenta a través del sedimento cuando habita en las planicies de marea (Iribarne et al. 1997), y considerando que la dieta es la principal vía de incorporación de metales para los animales marinos (Wang 2002), los resultados obtenidos sugieren que esta especie estaría regulando y no bioacumulando Cu (de acuerdo con lo mencionado más arriba) dentro de un cierto rango de acuerdo a las necesidades metabólicas.

Respecto del Cd, se puede observar que las concentraciones halladas en los cangrejos resultaron superiores a las concentraciones encontradas en los sedimentos (**Tabla 22**). Por otra parte, Ferrer (2001) trabajando con esta misma especie en Puerto Cuatrerros, halló niveles de Cd inferiores a los registrados en este estudio (rango hallado: nd - 1.81 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco). Una posible explicación para esta diferencia podría ser un aumento de las concentraciones de este metal en el estuario de Bahía Blanca. Ya en el 2005, Marcovecchio y Ferrer observaron un aumento en las concentraciones de Cd en el sedimento respecto de las concentraciones descriptas en los años 80's. Más aún, Marcovecchio et al. (2008) describen un aumento lento pero permanente de este metal, indicando la existencia de un ingreso continuo de Cd en la zona interna del estuario.

Tabla 22: Concentración de metales para cangrejos y poliquetos (rangos en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco, considerando los tres sitios: Villa del Mar, Puerto Cuatrerros e Islote del Puerto) y concentración de metales (rangos y valores medios, en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) para sedimentos del estuario de Bahía Blanca.

Matriz	Cu	Cd	Zn	Ni	Cr	Pb	Referencias
Cangrejos	85.10 - 160.20	5.56 - 11.26	29.96 - 38.47	5.24 - 17.68	ND - 1.20	ND - 4.01	Este estudio
Poliquetos	2.51 - 6.03	0.61 - 1.54	7.25 - 11.68	ND	ND	ND	
Sedimentos superficiales (IW)	9.56 \pm 4.32 (3.94 - 15.41)	1.21 \pm 0.57 (0.21 - 1.78)	38.00 \pm 13.81 (11.24 - 47.18)	12.23 \pm 5.59 (6.57 - 19.96)	6.89 \pm 7.13 (1.54 - 20.36)	13.29 \pm 4.71 (6.42 - 19.44)	Datos 2008-2009 (sin publicar)
Sedimento planicies (VM)	10.0 \pm 1.8	0.4 \pm 0.1	33 \pm 7	7.8 \pm 1.9	3.6 \pm 0.5	9.0 \pm 2.3	Hempel et al. (2008)
Sedimento planicies (PC)	6.45- 23.57	0.56- 4.44	24.22- 82.01	5.30- 17.39	6.20- 42.61	6.28- 30.28	Botté et al. (2009)

IW: Ing. White; VM: Villa del Mar; PC: Puerto Cuatrerros

El Cd, un metal no esencial que no puede ser regulado por los invertebrados marinos sino que se acumula en los tejidos, es incorporado tanto a través del agua como de la dieta (Rainbow 2002, Wang 2002). Sin embargo, viendo los niveles de Cd en sedimento, se observa que son mucho menores a los hallados en los cangrejos. Para poder entender estos resultados sería interesante analizar si existe alguna otra fuente de Cd que pueda estar influyendo en los niveles hallados. De todas formas, teniendo en cuenta que esta especie se alimenta de sedimento, esta acumulación de Cd podría originarse en aquellos períodos donde la alimentación es intensa (mayormente en primavera y verano).

Un tercer metal que resulta interesante es el Cr, otro metal no esencial. Si se observa la **Tabla 22** se puede ver que los sedimentos presentan niveles superiores al límite de detección, mientras que en los cangrejos analizados fueron en su mayoría no detectables. Ferrer (2001) también halló niveles por debajo del límite de detección para el Cr en esta misma especie. Marcovecchio y Ferrer (2005), haciendo un análisis de partición geoquímica del sedimento, hallaron que la fracción potencialmente biodisponible para el Cr era siempre menor al 3%, indicando una muy baja probabilidad de que este metal pueda ser asimilado por los organismos en el estuario de Bahía Blanca. Esto podría explicar los bajos niveles de Cr hallados en los tejidos de *N. granulata*.

En cuanto al Zn, este metal, al igual que el Cu, es un componente esencial en los crustáceos decápodos, formando parte de varias enzimas, entre ellas la anhidrasa carbónica (Rainbow 1997, 2007). Al igual que el Cu,

el Zn no se acumula sino que es regulado hasta cierta concentración umbral a partir de la cual se comienza a acumular proporcionalmente a los niveles externos (White y Rainbow 1982, 1985; Rainbow y White 1989; MacFarlane et al. 2000; Rainbow 2002). Para *N. granulata* el nivel umbral para este metal es aún también desconocido. Viendo la **Tabla 22** se puede observar que el rango de concentraciones hallado para esta especie fue bastante reducido, a pesar de que en el sedimento se detectaron concentraciones de hasta 82 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco (Botté et al. 2009).

Los resultados sugieren que *N. granulata* en el estuario de Bahía Blanca estaría regulando (y no bioacumulando) Zn, dentro de un cierto rango en función de sus necesidades metabólicas, al igual que lo informado para el Cu.

Respecto del Ni, un tercer metal no esencial, se observa (**Tabla 22**) que los niveles hallados en los cangrejos coinciden con las concentraciones presentes en los sedimentos, por lo que los cangrejos estarían bioacumulando este metal en función de las concentraciones biodisponibles en el ambiente.

Finalmente el Pb, el cuarto no esencial medido en este estudio, presentó concentraciones por debajo del límite de detección en la mayoría de las muestras de cangrejos. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ferrer (2001). Por otra parte, este metal se encuentra presente en los sedimentos del estuario en concentraciones de hasta 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco (Botté et al. 2009) (**Tabla 22**). Sumado a esto, Marcovecchio y Ferrer (2005),

al realizar la partición geoquímica para el Pb, hallaron un rango de entre un 4.5 y un 15% de la fracción potencialmente biodisponible, indicadora de la potencial asimilación de este metal por parte de los organismos del estuario de Bahía Blanca. Considerando por un lado los bajos porcentajes de la fracción biodisponible de Pb mencionados, y por otro la facilidad que tiene este metal para complejarse con materia orgánica en ambientes estuariales (Town y Filella 2002, Shank et al. 2004, Louis et al. 2009) sumado a la alta carga de materia orgánica determinada para el estuario de Bahía Blanca (Marcovecchio y Freije 2004, Marcovecchio et al. 2009) se pueden explicar los bajos contenidos de este metal medidos en los cangrejos.

A diferencia de lo sucedido con *N. granulata*, donde se contaba con estudios previos de referencia sobre la concentración de metales en estos organismos en el estuario de Bahía Blanca (Ferrer 2001), para poliquetos hasta el día de la fecha no hay bibliografía disponible informando sobre la concentración de metales en estos invertebrados en este ambiente. Por lo tanto en este estudio no fue posible comparar sino únicamente describir las concentraciones halladas en los poliquetos de la zona media e interna del estuario de Bahía Blanca.

Al medir las concentraciones de los distintos metales en poliquetos de los tres sitios, se hallaron niveles por encima del límite de detección para Cu, Cd y Zn a lo largo de todas las estaciones muestreadas. Por el contrario, la concentración del resto de los metales (Cr, Pb y Ni) estuvo por debajo del límite de detección en los tres sitios y en todas las estaciones muestreadas.

Se determinaron concentraciones similares de Cd en los tres sitios estudiados. En el caso del Cu, a diferencia de lo observado en los cangrejos, se verificó que las mayores concentraciones se registraron en el Islote, luego en Villa del Mar y finalmente en Puerto Cuatrerros. Respecto del Zn, nuevamente a diferencia de lo observado para los cangrejos, en los poliquetos se determinó que los niveles de Zn en el Islote fueron significativamente mayores que los niveles hallados en Villa del Mar y Puerto Cuatrerros.

Las diferencias significativas halladas entre sitios, tanto en cangrejos como en poliquetos, respecto de la concentración de algunos metales, podría ser un factor de importancia frente a la potencial incorporación de esos elementos a través de la dieta por parte de los ostreros según el sitio dentro del estuario donde estos se alimenten.

Respecto de la variación estacional en los metales, la mayor importancia radica en que la disponibilidad de cangrejos durante los meses de más frío baja notablemente mientras que los poliquetos están disponibles durante todo el año. Esto se encuentra asociado con la evidencia de un cambio estacional en la dieta de los ostreros descrito por diversos autores (Heppleston 1971a, b; Boates y Goss-Custard 1989; Hulscher 1996; Bachmann 1995). Por lo tanto resultaba interesante analizar si las concentraciones de metales en ambos invertebrados presentaban algún tipo de variación estacional al momento de establecer la potencial incorporación de metales en los ostreros a través de la dieta.

La variación estacional en la concentración de metales en crustáceos ha sido descrita por diversos autores (Swailah y Adelung 1995, Devescovi y Lucu 1995, Cain y Luoma 1990, Bjerregaard et al. 2005, Beltrame et al. 2009). En general se espera encontrar una disminución de los niveles de metales en invierno. Esto estaría asociado con las variaciones estacionales tanto intrínsecas (la tasa de crecimiento, el ciclo reproductivo) como extrínsecas (la salinidad del agua, la temperatura, etc). Devoscovi y Lucu (1995) hallaron una disminución de los niveles de Cu en el cangrejo *Carcinus mediterraneus* y atribuyeron esa disminución a reacciones metabólicas inducidas por el estatus nutricional. Beltrame et al. (2009) también hallaron una variación estacional para el Cu, Cd, Cr y Mn en *N. granulata* de la laguna Mar Chiquita, con las mayores concentraciones en primavera y verano. Estas son las estaciones con la mayor actividad biológica en esta especie, en oposición a los meses de invierno, donde los cangrejos pasan la mayor parte del tiempo enterrados en los profundo de las cuevas del cangrejal (Ituarte et al. 2004).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo expuesto anteriormente ya que se encontró una estacionalidad en la concentración de metales en *N. granulata*, siendo, en los casos donde se obtuvieron muestras de invierno (Villa del Mar y Puerto Cuatreros), ésta la estación con las menores concentraciones.

La bibliografía disponible sobre la variación estacional de metales en poliquetos es escasa. Los autores Bryan y Hummerstone (1971)

establecieron que la concentración de Cu en *Nereis diversicolor*, perteneciente a la familia Nereididae, está fuertemente relacionada con las concentraciones en el sedimento y que por el contrario el Zn permanece estable, independientemente de las variaciones en el ambiente, por lo que esta especie estaría regulando este metal. Howard y Brown (1983) también hallaron una influencia estacional sobre los niveles corporales de Cu en *Nereis diversicolor*, pero estos lo relacionaron con el ciclo reproductivo. Por su parte, Wright y Mason (1999) también hallaron variaciones estacionales de Cd, Zn y Hg en *Nereis diversicolor* y *Arenicola marina*, siendo, para los tres metales, el verano la estación con concentraciones máximas y el invierno con concentraciones mínimas. Estos autores sugieren que los factores ambientales (descargas al estuario, salinidad, pH, materia orgánica suspendida, etc) serían los responsables de esta variabilidad, más que los factores biológicos (metabolismo, reproducción, fluctuaciones en el peso del tejido blando, etc.).

Los resultados obtenidos en este estudio indican que la concentración de metales en poliquetos también presentó una variación estacional, pero en este caso sólo para Cu y Cd siendo, en ambos casos, otoño e invierno los meses con menores concentraciones. Sin embargo las concentraciones de Zn permanecieron sin variaciones significativas a lo largo de las estaciones. Como se enunció en los resultados, si bien las mediciones se realizaron sobre *pooles* de poliquetos y no sobre una especie determinada, la más abundante en todas las muestras fue *Laeonereis acuta* (familia Nereididae). Según Elías et al. (2004), la riqueza y diversidad de especies en la región interna

del estuario son bajas. Esto explicaría la baja diversidad de especies encontrada. Por lo tanto si estos resultados se comparan con el comportamiento descrito para *Nereis diversicolor* se observa una notable similitud.

De acuerdo a los resultados obtenidos en cuanto a la variabilidad estacional, si bien ésta existe, ambos invertebrados parecen responder de una forma similar, disminuyendo sus concentraciones durante los meses más fríos. Por lo tanto, el hecho de que el ostrero haga un cambio de dieta a lo largo del año no sería un factor que podría potencialmente estar influyendo en la mayor o menor incorporación de metales a través de los *ítem* presa. Sin embargo, dado que durante el invierno es más difícil obtener cangrejos ya que estos se encuentran enterrados en sus cuevas, la alimentación sobre estos invertebrados por parte de los ostreros cae rotundamente, teniendo que alimentarse de presas como los poliquetos. En principio se podría pensar entonces que la incorporación de metales durante estos meses fríos sería menor, ya que los niveles de metales en poliquetos son más bajas que las halladas en cangrejos. Para poder comprobar esto, sería necesario hacer un estudio de mayor profundidad sobre la dieta del ostrero a lo largo del año. También sería conveniente hacer un análisis estacional de estos metales en el ostrero (en plumas, por ejemplo).

Los metales pesados también fueron medidos en los huevos de cangrejos de los tres sitios y los niveles detectados fueron comparados con los de las hembras. En todos los metales, excepto el Zn que presentó niveles

superiores a los de las hembras (el Zn es un componente esencial de la cobertura de los huevos), las concentraciones en los huevos fueron inferiores a las halladas en hembras; aún así todos ellos presentaron valores por encima del límite de detección. El Cu resultó particularmente llamativo dado que los niveles hallados en huevos fueron dos órdenes de magnitud inferiores a los hallados en hembras. Diversos autores han propuesto que el aumento del Cu con la edad estaría dado por el aumento de la concentración de hemocianina (White y Rainbow 1987, Swaileh y Adelung 1995). Este aumento con la edad podría entonces ser una buena explicación de por qué los niveles de Cu hallados en hembras fueron dos órdenes de magnitud mayores que los hallados en huevos.

En la bibliografía existe muy poca información acerca de los metales en huevos de cangrejos. En particular para esta especie la única información disponible es la de Beltrame (2008). En la **Tabla 23** se comparan los valores obtenidos en este estudio con los descriptos por esta autora para huevos de *N. granulata* de la laguna Mar Chiquita, en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Si bien no corresponden al mismo sitio geográfico, se puede observar que los rangos de concentraciones detectados para los huevos del estuario de Bahía Blanca, contienen, a excepción del Zn y el Cr, a los valores medios hallados por Beltrame (2008).

Tabla 23: Comparación de concentración de metales ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) en huevos de cangrejo *N. granulata* del estuario de Bahía Blanca y de Mar Chiquita, en la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Especie	Sitio	Cu	Cd	Zn	Ni	Cr	Pb	Referencia
<i>Neohelice granulata</i>	Bahía Blanca, Argentina	38.36 - 64.23	ND - 8.90	44.68 - 56.24	0.65 - 6.13	ND	ND - 2.47	Este estudio
<i>Neohelice granulata</i>	Mar Chiquita, Argentina	47.03 \pm 10.88	0.51 \pm 0.30	82.53 \pm 6.80	4.44 \pm 3.34	1.26 \pm 0.79	1.29 \pm 2.10	Beltrame (2008)

Los resultados obtenidos en el presente estudio son de una gran importancia por dos motivos, en primer lugar, porque pareciera ser que existe un proceso de bioacumulación en esta especie previo a la eclosión. Por lo tanto, los niveles de metales pesados en huevos de cangrejos estarían asociados con la transferencia directa por parte de la hembra y por exposición directa, considerando que la incubación de los huevos es externa y por lo tanto se encuentran en contacto directo con el sedimento y el agua desde el momento en que son puestos (Ituarte et al. 2004).

El segundo motivo de importancia radica en que los huevos de cangrejo son una fuente importante de alimento para las aves costeras (Castro et al. 1989, Castro y Myers 1993, Burger 1997, Tshipoura y Burger 1999, Burger et al. 2002). Bachmann (1995), trabajando en ecología alimentaria del ostrero pardo en la laguna Mar Chiquita, encontró que durante los meses en que se encuentran disponibles las hembras de cangrejos con huevos (de septiembre a marzo), estos son ingeridos por los

ostreros. Del total de hembras de cangrejo, a un 86% le extrajeron los huevos y a un 14% las vísceras.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, donde tanto los cangrejos (tejido blando y huevos) como los poliquetos presentaron niveles por encima de los límites de detección en la mayor parte de los metales (a excepción del Cr y Pb en cangrejos y poliquetos y Ni en poliquetos), se podría suponer que los metales estarían siendo transferidos hacia los ostreros, y otras aves costeras, a través de la dieta, promoviendo la bioacumulación y biomagnificación de estos metales a través de las cadenas tróficas.

A partir de los resultados obtenidos para Villa del Mar y Puerto Cuatrerros, donde se no se hallaron diferencias significativas entre ambos sitios frente a los niveles de los seis metales analizados, tanto para cangrejos (tejido blando y huevos) como para poliquetos, se podría, al igual que como se hizo en el Capítulo I, hablar entonces de los cangrejos y poliquetos del Continente en los próximos estudios.

Para finalizar este estudio, se llevaron a cabo mediciones de metales en algunas cáscaras de huevos de ostrero que fueron halladas en los sitios de muestreo. Los huevos son un buen indicador de exposición local dado que las aves que se reproducen en las regiones templadas y tropicales pasan muchas semanas en las áreas de reproducción antes de poner sus huevos, adquiriendo suficientes recursos (y metales pesados) para producir los huevos (Burger 2002). Esto es válido también para las especies residentes,

como es el caso de *H. palliatus*. En general, las hembras secuestran los metales en sus huevos durante la formación de los mismos no sólo en el contenido sino también en la cáscara, siendo ésta otra vía de excreción de metales (Burger 1994, 2002). Si bien muchos de los estudios de metales en huevos de aves miden la concentración de metales en el contenido de los huevos y no en la cáscara, hay un considerable número de trabajos donde las mediciones se realizan en ésta (Burger 1994, Morera et al. 1997, Dauwe et al. 1999, Ayas et al. 2008). Según Morera et al. (1997), el contenido de metales en las cáscaras de huevos puede dar una buena idea del nivel de metales en el contenido de los huevos.

Los resultados de este estudio muestran que para todos los metales las concentraciones halladas en las cáscaras de huevos de ostreros se encontraron por encima de los límites de detección de la metodología analítica aplicada. Más aún, los valores detectados en los huevos de los distintos sitios presentaron concentraciones semejantes entre sí. Sin embargo, dado que el número de huevos analizados fue bajo, sería interesante repetir el análisis, esta vez con un tamaño muestral mayor, para ver si efectivamente esa falta de diferencias entre sitios se mantiene, procurando comprobarlo estadísticamente, sobre todo teniendo en cuenta las diferencias halladas entre sitios para algunos de los metales tanto en cangrejos como en poliquetos.

Los metales que presentaron las mayores concentraciones en las cáscaras de huevos fueron el Cd y el Pb. Scheuhammer (1987) encontró que

los metales como el Cd y el Pb pueden interactuar con las vías metabólicas del calcio, componente principal de las cáscaras de huevos. Consecuentemente se podrían estar incorporando estos metales más fácilmente a la cáscara durante su formación.

A partir de los resultados obtenidos en esta segunda parte del estudio ha sido posible responder a la segunda subhipótesis planteada. Dada la presencia de metales pesados tanto en los eslabones inferiores (cangrejos y poliquetos) como los superiores (huevos del ostrero) se puede inferir que los metales que se encuentran biodisponibles en el ambiente son transferidos a las poblaciones del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, del estuario de Bahía Blanca, a través de las cadenas tróficas.

CONCLUSIONES GENERALES

En el presente trabajo de investigación se realizó en primer lugar un estudio descriptivo y comparativo de los parámetros poblacionales, la biología reproductiva y selección de sitios de nidificación del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en tres sitios dentro de la zona interna y media del estuario de Bahía Blanca (dos continentales y uno insular). Posteriormente se llevó a cabo la determinación de los niveles de algunos metales pesados potencialmente tóxicos en *ítems* presa así como también en huevos del ostrero, en los mismos sitios dentro del estuario. A partir de los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- Se encontró una sincronía en la puesta de huevos de ostrero en los tres sitios de estudio, ocurriendo hacia fines de septiembre en el 2008 y entre mediados y fines de septiembre en el 2009.
- El número y densidad de parejas y nidos fue superior en el Islote que en el Continente, permaneciéndose estos números relativamente estables durante los dos años de estudio.
- El tamaño de la puesta presentó una moda igual a dos en los tres sitios de estudio en los dos años de muestreo, aunque se encontraron nidos de entre uno y tres huevos.
- El único sitio que presentó nidos con tres huevos fue el Islote. Sólo se encontraron cuatro nidos en 2008 y uno en 2009 con ese número de huevos.

- Los parámetros **largo** y **volumen** de los huevos fueron mayores en el Continente que en el Islote, mientras que el **ancho** fue similar. Esto sugeriría huevos más grandes en el Continente que en el Islote.
- El diámetro del nido no presentó diferencias significativas entre el Islote y el Continente, a pesar de la variabilidad de sustratos donde estos fueron elaborados.
- Con respecto al uso del hábitat, los nidos del Islote se ubicaron preferentemente cerca de la línea de marea de tormenta, mientras que los del Continente se ubicaron mayormente en una posición intermedia. Por otro lado, la mayor parte de los nidos del Islote presentó un grado de cobertura vegetal de más del 75% del área mientras que los nidos del Continente presentaron una cobertura vegetal de entre un 25 y un 50% del área. La presencia de otras especies nidificantes coloniales en el Islote, como *Larus atlanticus* y *L. dominicanus*, las cuales son potenciales depredadores, podría explicar el mayor grado de cobertura vegetal y la mayor cercanía a la línea de marea de tormenta como medida de protección de los huevos a potenciales ataques por parte de las gaviotas, evidenciando así una cierta flexibilidad en el comportamiento de esta especie como mecanismo de escape frente a la depredación.
- La elaboración de los nidos no presentó grandes diferencias entre los nidos del Islote y el Continente. Sin embargo, un determinado número de nidos, tanto en el Islote como en el Continente, resultó críptico y con

muy poca decoración. Dada la presencia de potenciales depredadores como las gaviotas y otras aves, este tipo de nidos evidenciaría una estrategia de supervivencia para evitar potenciales ataques.

- La presencia humana como elemento del impacto antrópico es un factor determinante en la variabilidad de la densidad de parejas y nidos respecto a la posición en el estuario de Bahía Blanca.
- Las concentraciones de metales en tejido blando de cangrejos entre hembras ovígeras y no ovígeras no presentaron diferencias significativas. Lo mismo se encontró entre hembras y machos.
- Las concentraciones de los seis metales tanto en cangrejos (tejido blando y huevos) como en poliquetos no presentaron diferencias significativas entre Villa del Mar y Puerto Cuatrerros. Esto refuerza la decisión de unir, en el Capítulo I, ambos sitios formando Continente.
- Los niveles de Zn y Ni el tejido blando de los cangrejos del Islote resultaron significativamente menores a los de Villa del Mar y Puerto Cuatrerros.
- Los niveles de Cu y Zn en poliquetos del Islote resultaron significativamente mayores que los de Villa del Mar y Puerto Cuatrerros.
- Se encontró una variación estacional para Cu, Cd, Ni y Zn en tejido blando de cangrejos y para Cu y Cd en poliquetos, siendo, en todos los casos, los meses más fríos los de significativamente menores concentraciones.

- Las concentraciones de Pb en tejido blando de cangrejos, si bien en Villa del Mar y Puerto Cuatrerros sólo fueron detectables durante la primavera, en el Islote fueron detectables durante las tres estaciones muestreadas.
- Las concentraciones de Cr en tejido blando de cangrejos, si bien en Villa del Mar y Puerto Cuatrerros fueron detectables sólo en primavera, en el Islote los niveles se hallaron por debajo del límite de detección en las tres estaciones muestreadas.
- En los huevos de cangrejos se hallaron concentraciones de Cu, Cd, Ni y Zn por encima del límite de detección. El Pb fue detectado únicamente en primavera (en Villa del Mar y Puerto Cuatrerros) y el Cr estuvo por debajo del límite de detección en los tres sitios y las dos estaciones.
- En todos los casos, excepto el Zn, los niveles de metales hallados en huevos fueron inferiores a los detectados en hembras. Para el caso del Cu las hembras presentaron concentraciones dos órdenes de magnitud mayores.
- La concentración de los seis metales en las cáscaras de huevos de ostreros estuvo en todos los casos por encima del límite de detección. La presencia de metales pesados tanto en los eslabones inferiores (cangrejos y poliquetos) como los superiores (huevos del ostrero) sugiere que los metales que se encuentran biodisponibles en el ambiente son transferidos a las poblaciones del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, del estuario de Bahía Blanca, a través de las cadenas tróficas.

Como conclusión final, y respondiendo a la hipótesis del trabajo, se puede decir entonces que las actividades antrópicas que se desarrollan en el estuario de Bahía Blanca condicionan a las poblaciones del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, favoreciendo el asentamiento de la especie en aquellos sitios menos perturbados por la presencia humana. A su vez, la presencia de metales en los huevos de estas especies estaría evidenciando una transferencia de metales biodisponibles, provenientes tanto de las condiciones naturales como de origen antrópico, a través de las cadenas tróficas. Teniendo en cuenta la toxicidad de estos elementos, aparece un potencial riesgo en esta especie, dado que muchos de estos metales pueden tener efectos sobre el desarrollo y el sistema nervioso de las aves. En este sentido, es necesario determinar los niveles críticos de esos metales para pronosticar cuantitativamente el efecto que puede producir sobre estas poblaciones.

El presente trabajo de investigación constituye el primer estudio descriptivo del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en el estuario de Bahía Blanca. A su vez es el primer estudio que analiza, en forma simultánea, los niveles de metales pesados en distintos eslabones de la cadena trófica. Por otra parte los resultados obtenidos para metales en poliquetos son el primer antecedente para la zona media e interna del estuario de Bahía Blanca.

A futuro sería interesante poder evaluar además los niveles de estos metales pesados en diversos tejidos del ostrero (plumas por ejemplo), dado que por ser una especie residente y por sus características alimentarias, podría actuar como un buen bioindicador de la calidad ambiental. Esta

información resultaría de suma utilidad teniendo en cuenta que esta región, sobre todo el área costera, se encuentra en permanente desarrollo, principalmente por la expansión de las industrias. La elaboración de planes de manejo costero será más eficiente cuanto mayor sea la cantidad de información disponible sobre las distintas especies que habitan en el estuario.

BIBLIOGRAFÍA

- Andrade S (2001) Metales pesados en el agua de la zona interna de Bahía Blanca, y su toxicidad sobre algunas especies fitoplanctónicas. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 244 pp.
- Andrade S, Marcovecchio JE, Pucci AE (1996) Dissolved and particulated trace metals in sub-surface waters from the southern area of Bahía Blanca estuary, in Argentina. En: Pollution Processes in Coastal Environments. Marcovecchio JE (ed), Universidad Nacional de Mar del Plata, pp. 267-271.
- Andrade S, Pucci AE, Marcovecchio JE (2000) Cadmium concentrations in the Bahía Blanca Estuary (Argentina). Potential effects of dissolved cadmium on the diatom *Thalassiosira curviseriata*. *Oceanología* 42 (4): 505-520.
- Ayas Z, Çelikkan H, AKksu ML (2008) Lead (Pb) and Copper (Cu) Concentration in the Eggshells of Audouin's Gulls (*Larus audouinii*) in Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 32: 379-384.
- Bachmann S (1995) Ecología alimentaria del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en la albufera de Mar Chiquita. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Mar del Plata. 35 pp.
- Bachmann S, Martínez MM (1998) Biología reproductiva del ostrero pardo, *Haematopus palliatus*, en las costas del SE de la Provincia de Bs. As. (Pdo. De Mar Chiquita). X Reunión Argentina de Ornitología. Mar del Plata, Bs. As., Argentina.

- Bachmann S, Martinez MM (1999) Feeding tactics of the American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*) on Mar Chiquita Coastal Lagoon, Argentina. *Ornitología Neotropical* 10: 81-84.
- Baker J, Cadman M (1980) Breeding Schedule, clutch size and egg size of American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*) in Virginia. *Wader Study Group Bulletin* 30: 32:33.
- Barrento S, Marques A, Teixeira B, Carvalho ML, Vaz- Pires P, Nunes ML (2009) Accumulation of elements (S, As, Br, Sr, Cd, Hg, Pb) in two populations of *Cancer pagurus*: Ecological implications to human consumption. *Food and Chemical Toxicology* 47: 150–156.
- Beltrame MO (2008) Dinámica biogeoquímica de nutrientes y metales pesados en ambientes intermareales de la laguna costera de Mar Chiquita: potenciales efectos ecotoxicológicos sobre especies claves del ecosistema. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Argentina, 259 pp.
- Beltrame MO, De Marco SG, Marcovecchio JE (2009) Influences of Sex, Habitat, and Seasonality on Heavy-Metal Concentrations in the Burrowing Crab (*Neohelice Granulata*) From a Coastal Lagoon in Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58(3): 746-756.
- Bertellotti M, Pagnoni G, Yorio P (2003) Comportamiento de alimentación de la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) durante la temporada no reproductiva en playas arenosas de Península Valdés, Argentina. *Hornero* 18(1): 37-42.

- Bjerregaard P, Bjørn L, Nørum U, Pedersen KL (2005) Cadmium in the shore crab *Carcinus maenas*: seasonal variation in cadmium content and uptake and elimination of cadmium after administration via food. *Aquatic Toxicology* 72: 5–15.
- Blanco DE (1999) Los humedales como hábitat de aves acuáticas. En: Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica. Malvarez AI (ed). ORCYT-UNESCO, Montevideo, pp. 208-217.
- Boates JS, Goss-Custard JD (1989) Foraging behavior of oystercatchers *Haematopus ostralegus* during a diet switch from worms *Nereis diversicolor* to clams *Scrobicularia plana*. *Canada Journal of Zoology* 67: 2225-2231.
- Boltovskoy D (2007) Atlas de sensibilidad ambiental de la costa y el mar Argentino. http://atlas.ambiente.gov.ar/mapas/pdfs/011_BahiaBlanca.pdf.
- Botté SE (2005) El rol de la vegetación en el ciclo biogeoquímico de los metales pesados en humedales del estuario de Bahía Blanca. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Argentina, 317 pp.
- Botté SE, Arlenghi J, Del Blanco L, Asteasuain AA, Marcovecchio JE (2009) Variación entre pleamar y bajamar en la concentración de metales en el sedimento de planicie del estuario de Bahía Blanca. Primera Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie (IRAGSU). Córdoba (Argentina).
- Botto F, Iribarne OO, Martínez MM, Delhey JKV, Carrete M (1998) The effect of migratory shorebirds on benthic species of three Southwestern Atlantic Argentinean Estuaries. *Estuaries* 21: 700-709.

- Botto F, Palomo G, Iribarne OO, Martínez MM (2000) The effect of Southwestern Atlantic burrowing crabs on habitat use and foraging activity of migratory shorebirds. *Estuaries* 23(2): 208-215.
- Bryan GW, Hummerstone LG (1971) Adaptation of the polychaete *Nereis diversicolor* to estuarine sediments containing high concentrations of heavy metals. I. General observations and adaptation to copper. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 51: 845-863.
- Burger J (1994) Heavy metals in avian eggshells: Another excretion method. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 41 (2): 207-220.
- Burger J (1997) Heavy metals in the eggs and muscle of horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*) from Delaware Bay. *Environmental Monitoring and Assessment* 46: 279–287.
- Burger J (2002) Food chain differences affect heavy metals in bird eggs in Barnegat Bay, New Jersey. *Environmental Research Section A* 90: 33-39.
- Burger J, Gochfeld M (1991a) Cadmium and lead in common terns (Aves: *Sterna hirundo*): Relationship between levels in parents and eggs. *Environmental Monitoring and Assessment* 16: 253–258.
- Burger J, Gochfeld M (1991b) Human activity influence and diurnal and nocturnal foraging of Sanderlings (*Calidris alba*). *Condor* 93: 259-265.
- Burger J, Gochfeld M (1995a) Behavior effects of lead exposure on different days for gull (*Larus argentatus*) chicks. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* Volume 50 (1): 97-105.
- Burger J, Gochfeld M (1995b) Growth and behavioral effects of early postnatal chromium and manganese exposure in herring gull (*Larus*

- argentatus*) chicks. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 50 (4): 607-612.
- Burger J, Gochfeld M (1995c) Heavy metal and Selenium concentrations in eggs of Herring gulls (*Larus argentatus*): Temporal differences from 1989 to 1994. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 29: 192-197.
- Burger J, Gochfeld M (1996) Heavy metal and Selenium levels in birds at Agassiz National Wildlife Refuge, Minnesota: Food chain differences. *Environmental Monitoring and Assessment* 43: 267-282.
- Burger J, Gochfeld M (2002) Effects of chemicals and pollution on seabirds. En: *Biology of marine birds*. Schreiber EA, Burger J (eds). CRC Press, Marine Biology Series, pp. 485-525.
- Burger J, Seyboldt S, Morganstein N, Clark K (1993) Heavy metals and Selenium in feathers of three shorebird species from Delaware Bay. *Environmental Monitoring and Assessment* 28: 189-198.
- Burger J, Nisbet IST, Gochfeld M (1994) Heavy Metal and Selenium Levels in Feathers of Known-Aged Common Terns (*Sterna hirundo*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 26, 351–355.
- Burger J, Trivedi CD, Gochfeld M (2000) Metals in Herring and Black-Backed gulls from the New York Bight: The role of the salt gland in excretion. *Environmental Monitoring and Assessment* 64: 569-581.
- Burger J, Dixon C, Shukla T, Tsipoura N, Gochfeld M (2002) Metal levels in horseshoe crabs (*Limulus polyphemus*) from Maine to Florida. *Environmental Research* 90: 227–236.

- Cain DJ, Luoma SN (1990) Influence of seasonal growth, age and environmental exposure on Cu and Ag in a bivalve indicator, *Macoma balthica*, in San Francisco Bay. *Marine Ecology Progress Series* 60: 45-55.
- Canevari P, Blanco DE, Bucher EH (1999) Los beneficios de los humedales de la Argentina. Amenazas y propuestas de soluciones. *Wetlands International*. Bs. As. 64 pp.
- Carbone ME, Limbozzi F, Alberdi E, Abalo P (2008) Effect of the flowrate variations of Sauce Chico and Napostá Grande rivers over the inner part of Bahía Blanca estuary. En: *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management in South America*, pp 489-499.
- Castro G, Myers JO, Place AR (1989) Assimilation efficiency of sanderlings (*Calidris alba*) feeding on horseshoe crab eggs. *Physiological Zoology* 62: 716-731.
- Castro G, Myers JP (1993) Shorebird predation on eggs of Horseshoe crabs during spring stopover on Delaware Bay. *The Auk* 110(4): 927-930.
- Cuadrado D, Ginsberg S, Gómez EA (2004) Geomorfología. En: *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds). Edi UNS, pp. 29-38.
- Costanza R, D'Arge R, De Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill R, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, Van Den Belt M (1997) The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387: 253 -260.

- Daleo P, Escapa M, Issach JP, Ribeiro P, Iribarne O (2005) Trophic facilitation by the oystercatcher *Haematopus palliatus* Temminick on the scavenger snail *Buccinanops globulosum* Kiener in a Patagonian Bay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 325: 27-34.
- Dauwe T, Bervoets L, Blust R, Pinxten R, Eens M (1999) Are eggshells and egg contents of great and blue tits suitable as indicators of heavy metal pollution? *Belgium journal of zoology* 129 (2): 439-447.
- Davidson NC, Rothwell PI (1993) Human disturbance to waterfowl on estuaries: conservation and coastal management implications of current knowledge. *Wader Study Group Bulletin* 68: 97-105.
- De Marco SG, Botté SE, Marcovecchio JE (2006) Mercury distribution in abiotic and biological compartments within several estuarine systems from Argentina: 1980 – 2005 period. *Chemosphere* 65(2): 213-223.
- Delhey JKV, Petracci PF, Grassini CM (2001) Hallazgo de una nueva colonia de Gaviota de Olrog (*Larus atlanticus*) en la ría de Bahía Blanca, Argentina. *Hornero* 16:39–42.
- Delhey, JKV, Petracci, PF (2004) Aves marinas y costeras. En: *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds). Edi UNS, pp. 203-220.
- Depledge MH, Fossi MC (1994) The role of biomarkers in environmental assessment (2). *Invertebrates. Ecotoxicology*, 3, 161-172.
- Devescovi M, Lucu C (1995) Seasonal changes of the copper level in shore crabs *Carcinus mediterraneus*. *Marine Ecology Progress Series* 120: 169–174.

- Elías R (1985) Macrobentos del estuario de Bahía Blanca (Argentina) I. Mesolitoral. *Spheniscus* 1:1-33.
- Elías R (1992) Quantitative Benthic Community Structure in Blanca Bay and Its Relationship With Organic Enrichment. *Marine Ecology* 13: 189–201.
- Elías R, Ieno E (1993) La asociación de *Laeonereis acuta* Treadwell, 1923 (Polychaeta, Nereididae) en la Bahía Blanca, Argentina. *Iheringia, Serie Zoologica, Porto Alegre* 75: 3-13.
- Elías R, Bremec CS (1994) Biomonitoring of water quality using benthic communities in Blanca Bay (Argentina). *Science of the Total Environment* 158 (18): 45-49.
- Elías R, Iribarne O, Bremec CS, Martinez DE (2004). Comunidades bentónicas de fondos blandos. En: *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds). Edi UNS, pp. 179-190.
- Environmental Protection Agency (1979)
<http://www.epa.gov/oppt/existingchemicals/pubs/enhanchems.html>
- Escapa M, Perillo GME, Iribarne O (2008) Sediment dynamics modulated by burrowing crab activities in contrasting SW Atlantic intertidal habitats. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 80: 365-373.
- Fernández Severini MD (2008) Distribución y toxicidad de algunos metales pesados en el zooplancton de la zona interior del estuario de Bahía Blanca. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 281 pp.

- Ferrer LD (2001) Estudio de diversos metales pesados en sedimentos del estuario de Bahía Blanca y sus efectos tóxicos sobre el cangrejo *Chasmagnathus granulata*. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 213 pp.
- Ferrer LD, Contardi E, Andrade S, Asteasuain RO, Pucci AE, Marcovecchio JE (2000) Environmental cadmium and lead concentrations in the Bahía Blanca Estuary (Argentina). Potential toxic effects of Cd and Pb on crab larvae. *Oceanología* 42 (4): 493-504.
- Ferrer LD, Andrade S, Asteasuain RO, Marcovecchio JE (2006) Acute toxicity of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 65: 209-217.
- Freije RH, Asteasuain RO, Schmidt AS, Zavatti JR (1981) Relación de la salinidad y temperatura del agua con la condiciones hidrometeorológicas en la porción interna del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Contribución Científica N° 57, 20 pp.
- Freije RH, Spetter CV, Marcovecchio JE, Popovich CA, Botte SE, Negrin V, Arias AH, Delucchi F, Asteasuain RO (2008) Water chemistry and nutrients of the Bahía Blanca Estuary. En: Neves R, Baretta JW, Mateus M (eds), *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press, Part B, 243 – 256. Lisboa. Portugal. ISBN: 978-572-8469-74-0.

- Förstner U, Wittmann GTW (1983) Metal Pollution in the Aquatic Environment. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York Tokio, 486 pp.
- García GO, Gómez Laich A (2007) Abundancia y riqueza específica en un ensamble de aves marinas y costeras del Sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Hornero* 22(1): 9-16.
- Gatto A, Quintana F, Yorio PLisnizer N (2005) Abundancia y diversidad de aves acuáticas en un humedal marino del Golfo San Jorge, Argentina. *Hornero* 20(2):141-152.
- Gelos EM, Marcos AO, Spagnuolo JO, Schillizzi RA (2004). Textura y mineralogía de los sedimentos. En: Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds). Edi UNS.
- Giangrande A, Licciano M, Musco L (2005) Polychaetes as environmental indicators revisited. *Marine Pollution Bulletin* 50: 1153–1162.
- Gochfeld M (1997) Spatial Patterns in a Bioindicator: Heavy Metal and Selenium Concentration in Eggs of Herring Gulls (*Larus argentatus*) in the New York Bight. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 33: 63–70.
- Goss-Custard JD (1985) Foraging behavior of wading birds on the carrying capacity of estuaries. En: Behavioral Ecology. Sibly RM, Smith RH (eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, pp. 169-189.
- Gray JS (1997) Marine biodiversity: patterns, threats and conservation needs. *Biodiversity and Conservation* 6: 153-175.

- Hayes FE, Paice MR, Blunden T, William Smith P, Smith SA, White G, Frost MD (2006) Status of the American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*) in St. Vincent and the Grenadines. *Journal of Caribbean Ornithology* 19: 48-51.
- Hempel M, Botté SE, Negrin VL, Chiarello MN, Marcovecchio JE (2008) The role of the smooth cordgrass *Spartina alterniflora* and associated sediments in the heavy metal biogeochemical cycle within Bahía Blanca estuary salt marshes. *Journal of Soils and Sediments* 8:289–297
- Heppleston PB (1971a) Feeding techniques of the Oystercatcher. *Bird Study* 15-20.
- Heppleston PB (1971b) The feeding ecology of Oystercatchers (*Haematopus ostralegus* L.) in winter in Northern Scotland. *Journal of Animal Ecology* 40: 651-672.
- Hernández MA, Bala LO (2007) Prey selection and foraging patterns of the White-rumped Sandpiper (*Calidris fuscicollis*) at Peninsula Valdes, Patagonia, Argentina. *Ornitologia Neotropical* 18: 37-49.
- Hernández Pérez E (2006) Primer registro sobre la reproducción del ostrero americano (*Haematopus palliatus*) en Cuba. *Journal of Caribbean Ornithology* 19: 59-60.
- Howard LS, Brown BE (1983) Natural variations in tissue concentration of copper, zinc and iron in the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Biology* 78: 87-97.
- Hoyt DF (1979) Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird eggs. *The Auk* 96: 73-77.

- Hulscher JB (1996) Food and feeding behavior. En: The Oystercatchers, from individual to populations. Goss-Custard JD (ed). Oxford University Press, pp. 7-29.
- INDEC, “*Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas del año 2010*”. <http://www.censo2010.indec.gov.ar>
- Ip CCM, Li X-D, Zhang G, Wai OWH, Li Y-S (2007) Trace metal distribution in sediments of the Pearl River Estuary and the surrounding coastal area, South China. *Environmental Pollution* 147: 311–323.
- Iribarne O, Bortolus A, Botto F (1997) Between-habitat differences in burrow characteristics and trophic modes in the southwestern Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulata*. *Marine Ecology Progress Series* 155: 132-145.
- Ituarte R, Spivak E, Luppi T (2004) Female reproductive cycle of the Southwestern Atlantic estuarine crab *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Grapsoidea: Varunidae). *Scientia Marina* 68: 127-137.
- Kennish MJ (1991) *Ecology of estuaries: Anthropogenic effects*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, 512 pp.
- Kennish MJ (1997) *Practical Handbook of estuarine and marine pollution*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, 310 pp.
- Kennish MJ (2002) Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation* 29: 78-107.
- Kucuksezgin F (2011) The Water Quality of Izmir Bay: a case study. En: Whitacre DM (ed), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer Science + Business Media, pp. 1- 19.

- La Sala LF; Petracci PF; Botte SE, Furness RW (2009) Metales pesados en Gaviota Cangrejera, *Larus atlanticus*. VII Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar, Bahía Blanca, Argentina.
- La Sala LF, Perez A, Martorelli S, Smits JE (2011a) Breeding Biology of Olrog's Gull in Bahía Blanca Estuary, Argentina, *The Wilson Journal of Ornithology* 123(2):243-250.
- La Sala LF, Petracci PF, Smits JE, Botté SE, Furness RW (2011b) Mercury levels and health parameters in the threatened Olrog's Gull (*Larus atlanticus*) from Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, DOI: 10.1007/s10661-010-1808-6.
- Lauro B, Burger J (1989) Nest- site selection of American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*) in salt marshes. *The Auk* 106: 185-192.
- Lauro B, Nol E, Vicari M (1992) Nesting density and comunal breeding in the American Oystercatchers. *Condor* 94: 286-289.
- Lavolpe M, López Greco LS, Kesselman D, Rodríguez EM (2004) Differential toxicity of Cooper, zinc and lead during the embryonic development of *Chasmagnathus granulata* (Brachyura, Varunidae). *Environmental Toxicology and Chemistry* 23 (4): 960-967.
- López Greco LS, Sánchez MV, Nicoloso GL, Medesani DA, Rodríguez EM (2001) Toxicity of cadmium and Cooper on larval and juvenile stages of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Grapsidae): *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 41: 333-338.
- Louis Y, Garnier C, Lenoble V, Omanović D, Mounier S, Pizęta I (2009) Characterisation and modelling of marine dissolved organic matter

- interactions with major and trace cations. *Marine Environmental Research* 67: 100–107.
- Luppi TA, Spivak ED, Bas CC, Anger K (2004) Molt and growth of an estuarine crab, *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura: Varunidae), In Mar Chiquita Lagoon, Argentina. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 333-344.
- MacFarlane GR, Booth DJ, Brown KR (2000) The semaphore crab, *Heloecius cordiformis*: bio-indication potential for heavy metals in estuarine systems. *Aquatic Toxicology* 50:153–166.
- Marcovecchio JE (1994) Trace metal residues in tissues of two crustacean species from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Environment Monitoring and Assessment* 29: 65-73.
- Marcovecchio JE, Moreno VJ, Pérez A (1988a) Total mercury levels in marine organisms of the Bahía Blanca Estuarine trophic web. En: *Metals in Coastal Environments of Latin America*. Seeliger U, de Lacerda LD y Patchineelam SR (eds), Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 122-129.
- Marcovecchio JE, Moreno VJ, Pérez A (1988b) Determination of heavy metal concentrations in biota of Bahía Blanca, Argentina. *The Science of the Total Environment* 75: 181-190.
- Marcovecchio JE, Moreno VJ, Pérez A (1988c) The sole, *Paralichthys* sp., as an indicator species for heavy metal pollution in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *The Science of the Total Environment* 75: 191-199.

- Marcovecchio JE, Moreno VJ, Pérez A (1991) Metal Accumulation in Tissues of Sharks from the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine Environmental Research* 31: 263-274.
- Marcovecchio JE, Andrade S, Ferrer LD, Asteasuain RO, De Marco SG, Gavio MA, Scarlato N, Freije RH, Pucci AE (2001) Mercury distribution in estuarine environments from Argentina: the detoxification and recovery of salt marshes after 15 years. *Wetlands Ecology and Management* 9: 317-322.
- Marcovecchio JE, Freije RH (2004) Efectos de la intervención antrópica sobre sistemas marinos costeros: el estuario de Bahía Blanca. *Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (ANCEFN), Argentina* 56, 115-132.
- Marcovecchio JE, Ferrer L (2005) Distribution and geochemical partitioning of heavy metals in sediments of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research* 21: 826-834.
- Marcovecchio JE, Botté SE, Delucchi F, Arias A, Fernández Severini M, De Marco S, Tombesi N, Andrade A, Ferrer L, Freije RH (2008) Pollution processes in Bahía Blanca Estuarine Environment. En: Neves R, Baretta JW, Mateus M (eds), *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press, Lisboa, pp. 301-314. ISBN: 978-572-8469-74-0.
- Marcovecchio JE, Spetter CV, Botté SE, Delucchi F, Arias AH, Fernández Severini MD, Negrin VL, Popovich CA, Freije RH (2009) Inorganic

- nutrients and organic matter tidal time-scale variation in a mesotidal estuary: Bahía Blanca, Argentina. *Chemistry & Ecology* 25 (6): 453-465.
- Marcus N (2004) An Overview of the Impacts of Eutrophication and Chemical Pollutants on Copepods of the Coastal Zone. *Zoological Studies*, 43(2): 211-217.
- Markert B (2007) Definitions and principles for bioindication and biomonitoring of trace metals in the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 21(S1), 77–82.
- Martínez M, Bachmann S (1997) Kleptoparasitism of the American Oystercatcher *Haematopus palliatus* by gulls *Larus spp.* In Mar Chiquita Lagoon, Buenos Aires, Argentina. *Marine Ornithology* 25: 68-69.
- McGowan CP (2004) Factors affecting nesting success of American Oystercatchers (*Haematopus palliatus*) in North Carolina. Tesis de grado. North Carolina State University. 89 pp.
- McGowan CP, Schulte SA, Simons TR (2005) Resightings of marked American Oystercatchers banded as chicks. *Wilson Bulletin* 117 (4): 382-385.
- Mendonça VM, Raffaelli DG, Boyle PR (2007) Interactions between shorebirds and benthic invertebrates at Culbin Sands lagoon, NE Scotland: Effects of avian predation on their prey community density and structure. *Scientia Marina* 71(3): 579-591.
- Medesani DA, López Greco LS, Rodríguez EM (2004a) Disruption of Endocrine Regulation of Glycemia Levels by Cadmium and Copper in the

- Estuarine Crab *Chasmagnathus granulata*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 73: 942–946.
- Medesani DA, López Greco LS, Rodríguez EM (2004b) Interference of cadmium and Cooper with the endocrine control of ovarian growth, in the estuarine crab *Chasmagnathus granulata*. Aquatic Toxicology 69: 165-174.
- Miller EH, Baker AJ (1980) Displays of the Magellanic Oystercatcher (*Haematopus leucopodus*). Wilson Bulletin 92(2): 149-168.
- Morera M, Sanpera C, Crespo S, Jover L, Ruiz X (1997) Inter and Intraclutch Variability in Heavy Metals and Selenium Levels in Audouin's Gull Eggs from Ebro Delta, Spain. Archive of Environmental Contamination and Toxicology 33: 71-75.
- Monserrat Sole, Kopecka-Pilarczyk J, Blasco J (2009) Pollution biomarkers in two estuarine invertebrates, *Nereis diversicolor* and *Scrobicularia plana*, from a Marsh ecosystem in SW Spain. Environment International 35: 523–531.
- Narosky T, Yzurieta D (1989) Guía para la identificación de las aves de Argentina y Uruguay. Asociación Ornitológica del Plata. Vazquez Mazzini (eds). 345 pp.
- Nol E (1989) Food supply and reproductive performance of the American Oystercatcher in Virginia. Condor 91: 429-435.
- Nol E, Baker AJ, Cadman M (1984) Clutch initiation date, clutch size and egg size, of the American Oystercatcher in Virginia. Auk 101: 855-867.

- Nol E, Humphrey RC (1994) American Oystercatcher. The birds of North America N° 82. Poole A y Gill F (eds). 23 pp.
- Pacheco CJ, Castilla JC (2001) Foraging behavior of the American Oystercatcher *Haematopus palliatus pitanay* (Murphy 1925) on the intertidal ascidian *Pyura praeputialis* (Heller 1878) in the Bay of Antofagasta, Chile. Japan Ethological Society 19: 23-26.
- Palomo G, Martinetto P, Iribarne O (2004) Changes in the feeding behavior of the deposit-feeding polychaete *Laeonereis acuta* on soft sediments inhabited by burrowing crabs. Marine Biology 145: 657-667.
- Perillo GME, Piccolo MC (1991) Tidal response in the Bahía Blanca Estuary. Journal of Coastal Research 7:437.
- Perillo GME, Piccolo MC (1999) Geomorphologic and physical characteristics of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Perillo GME, Piccolo MC y Pino Quivira M (eds), Estuaries of South America: their geomorphology and dynamics. Springer Verlag, Berlin, Chapter 9, pp. 95-216.
- Perillo GME, Piccolo MC, Parodi E, Freije RH (2001) The Bahía Blanca Estuary, Argentina. Ecological Estudios, Vol. 144.
- Perillo GME, Piccolo MC, Palma E, Pérez DE, Pierini J (2004) Oceanografía física. En: Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds). Edi UNS, pp. 61-67.
- Petracci PF, La Sala L, Aguerre G, Pérez CH, Acosta N, Sotelo M, Pamparana C (2004) Dieta de la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*)

- durante el período reproductivo en el Estuario de Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. *El Hornero* 19(1): 23-28.
- Petracci PF, Delhey JKV (2005) Guía de las aves marinas y costeras de la ría de Bahía Blanca. Petracci PF, Delhey JKV (eds). Bahía Blanca.
- Petracci PF, Delhey JKV, Sotelo M (2007) Hábitos granívoros en la gaviota cangrejera (*Larus atlanticus*): implicancias sobre su estatus de especialista. *Hornero* 22(1): 51-54.
- Petracci PF, Sotelo MR, Díaz L (2008) Nuevo registro de nidificación de la gaviota cangrejera (*Larus atlanticus*) en la Reserva Natural Bahía Blanca, Bahía Falsa y Bahía Verde, Buenos Aires, Argentina. *Hornero* 23(1): 37-40.
- Piccolo MC, Perillo GME, Arango JM (1987) Hidrogeografía del estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Revista Geofísica* 26: 75-89.
- Piccolo MC, Perillo GME (1997) Geomorfología e hidrogeografía de los estuarios. *El Mar Argentino y sus recursos pesqueros* 1: 133-161.
- Pienkowsky MW (1983) Surface activity of some intertidal invertebrates in relation to temperature and the foraging behaviour of their shorebird predators. *Marine Ecology* 11:141-150.
- Pucci AE (1988) Heavy metals in water and sediments of the Blanca Bay, Argentina. En: *Metals in Coastal Environments of Latin America*. Seeliger U., de Lacerda LD y Patchineelam (eds), Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 9-15.

- Rainbow PS (1997) Trace metal accumulation in marine invertebrates; marine biology or marine chemistry. *Journal of Marine Association of U.K.* 77: 195–210.
- Rainbow PS (2002) Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: Why and so what? *Environmental Pollution* 120: 497–507.
- Rainbow PS (2007) Trace metal bioaccumulation: Models, metabolic availability and toxicity. *Environment International* 33: 576-582.
- Rainbow PS, White SL (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.
- Rodriguez-Ferraro A, Azpiroz AB (2004) Nidificación del caracolero (*Haematopus palliatus*) en la Península de Paraguaná, Venezuela. *Ornitología Neotropical* 15: 269-270.
- Sagar PM, Geddes D, Banks J, Howden P (2000) Breeding of South Island pied oystercatchers (*Haematopus ostralegus finschi*) on farm land in mid-Canterbury, New Zealand. *Notornis* 47: 71 -81.
- Salomons W, Förstner U (1984) *Metals in the Hydrocycle*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 349 pp.
- Scheuhammer AM (1987) The chronic toxicity of aluminum, cadmium, mercury and lead in bird: A Review. *Environmental Pollution* 46: 263-295.
- Siegel-Causey D (1991) Foraging hábitat selection by American and Magellanic oystercatcher (*Haematopus palliatus* and *H. leucopodus*) on Patagonian tidal flats. *Canadian Journal of Zoology* 69: 1636-1643.

- Simons T, Schulte S, McGowan CP (2005) American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*) research and monitoring in North Carolina, 2005 Annual Report. 46 pp.
- Shank GC, Skrabal SA, Whitehead RF, Kieber RJ (2004) Strong copper complexation in an organic-rich estuary: the importance of allochthonous dissolved organic matter. *Marine Chemistry* 88: 21– 39.
- Shields MA, Parnell JF (1990) Marsh nesting by American Oystercatchers in North Carolina. *Journal of Field Ornithology* 61(4):431-433.
- Spahn SA, Sherry TW (1999) Cadmium and Lead exposure associated with reduced growth rates, poorer fledging success of little blue heron chicks (*Egretta caerulea*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 37: 377-384.
- Spivak E, Anger K, Luppi TA, Bas C, Ismael D (1994) Distribution and habitat preferences of two grapsid crab species in Mar Chiquita Lagoon (Province of Buenos Aires, Argentina). *Helgoländer Meeresunters*, 48, 59-78.
- Swaileh KM, Adelung D (1995) Effect of body size and season on the concentrations of Cu, Cd, Pb and Zn, in *Diastylis rathkei* from Keil Bay, Western Baltic. *Marine Pollution Bulletin* 31 (1-3): 103–107.
- Toland B (1999) Nest site characteristics, breeding phenology, and nesting success of American Oystercatchers in Indian River County, Florida. *Florida Field Naturalist* 27(3):112-116.

- Town RM, Filella M (2002) Implications of natural organic matter binding heterogeneity on understanding lead (II) complexation in aquatic systems. *The Science of the Total Environment* 300: 143–154.
- Tsipoura N, Burger J (1999) Shorebird diet during spring migration stop-over on Delaware Bay. *Condor* 101: 635–644.
- Tuckwell J, Nol E (1997a) Foraging behavior of American oystercatchers in response to declining prey densities. *Canadian Journal of Zoology* 75: 170-181.
- Tuckwell J, Nol E (1997b) Intra- and inter-specific interactions of foraging American osyercatchers on an oyster bed. *Canadian Journal of Zoology* 75: 182-187.
- Turoczy NJ, Mitchell BD, Levings AH, Rajendram VS (2001) Cadmium, copper, mercury, and zinc concentrations in tissues of the King Crab (*Pseudocarcinus gigas*) from southeast Australian waters. *Environ Int* 27: 327–334.
- Verhulst S, Oosterbeek K, Ens BJ (2001) Experimental evidence of human disturbance on foraging and parental care in oystercatchers. *Biological Conservation* 101: 375-380.
- Villa N, Pucci AE (1985) Distribution of Iron and Manganese in the Blanca Bay, Argentina. *Marine Pollution Bulletin* 16 (9): 369-371.
- Villa N, Pucci AE (1987) Seasonal and Spatial Distributions of Copper, Cadmium and Zinc in the Seawater of Blanca Bay. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 25: 67-80.

- Wang WX (2002) Interactions of trace metals and different marine food chains. *Marine Ecology Progress Series* 243: 295–309.
- Wang W-X, Rainbow PS (2008) Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 148: 315–323.
- Warnock N, Elphick C, Rubega MA (2002) Shorebirds in the marine environment. En: *Biology of marine birds*. Schreiber EA, Burger J (eds). CRC Press, Marine Biology Series, pp. 581-606.
- White S, Rainbow PS (1982) Regulation and accumulation of copper, zinc and cadmium by the shrimp *Palaemon elegans*. *Marine Ecology Progress Series* 8: 95-101.
- White SL, Rainbow PS (1987) Heavy metal concentrations and size effects in the mesopelagic decapod crustacean *Systellaspis debilis*. *Marine Ecology Progress Series* 37: 147-151.
- Wright P, Mason CF (1999) Spatial and seasonal variation in heavy metals in the sediments and biota of two adjacent estuaries, the Orwell and the Stour, in eastern England. *The Science of the Total Environment* 226: 139-156.
- Zapata V, López Greco LS, Rodríguez EM (2001) Effect of Cooper on hatching and development of larvae of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(7): 1579-1583.
- Zauke G-P, Ritterhoff J, Rinderhagen M (1998) Concepts and Applications in Aquatic Biomonitoring. - Internal Review Paper (updated version:

November 2005), Aquatic Ecology Group, ICBM, CvO Univ. Oldenburg, Oldenburg, Germany, 38 pp.

Zhou Q, Zhang J, Fu J, Shi J, Jiang G (2008) Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* 606: 135–150.

Zoumis T, Schmidt A, Grigorova L, Calmano W (2001) Contaminants in sediments: remobilisation and demobilisation. *Science of the Total Environment* 266:195–202.