



Tesina para optar por el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas

*Determinación de mercurio y cadmio en león marino
sudamericano *Otaria flavescens* (Shaw, 1800) y lobo fino
austral *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1783) en la
costa Atlántica uruguaya*



Fiorella Tagliamonte

*Orientador: Dra. María Salhi
Lab. de Recursos Naturales- Inst. de Ecología y Ciencias Ambientales*

*Tribunal: Dra. María Salhi
Dr. Martin Bessonart
Msc. Ernesto Brugnoli*

Noviembre 2009

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias, por brindarme la posibilidad de realizar el trabajo.

A la DINARA y específicamente al Laboratorio de Análisis de Productos Pesqueros por abrirnos gentilmente sus puertas para realizar las etapas de laboratorio y apoyar la formación de estudiantes.

A María Salhi, mi tutora, por su apoyo continuo en todas las etapas del trabajo desde el aporte de ideas, la realización de las salidas de campo, la enseñanza de las técnicas analíticas, por apostar y confiar en la idea desde el momento en que se la planteé y por su contagiante sencillez y buena onda.

A Federico Achaval por dedicar horas de su tiempo libre a colaborar en las salidas de campo transmitiendo sus conocimientos.

A Ernesto Brugnoli y Martín Bessonart, por sus comentarios y sugerencias en la etapa de corrección.

A Mariana Foglia, amiga y compañera de laburo, por su apoyo para hacer que este trabajo se realice aún cuando parecía que se nos cerraban todas las puertas.

A Valentina Franco, por su disposición y colaboración en la facilitación de material bibliográfico.

A Alberto Ponce de León, por brindarnos su apoyo como Director del Departamento de Mamíferos Marinos de DINARA y facilitarnos las instalaciones de la estación de DINARA en Cabo Polonio.

A mis amigas y amigos, que durante estos años me brindaron su cariño y el empuje necesario para continuar con el trabajo.

A mis padres y mis hermanos, Nati y Santi, que sin entender mucho de que se trataba todo esto me apoyaron durante toda la carrera y me alentaron a continuar.

A Leo, por su eterna paciencia, su apoyo emocional y por ser un gran compañero en esta etapa de mi vida.

A todos, muchas gracias.

Contenido

1. Introducción	4
1.1 La contaminación ambiental y los metales pesados	4
1.2 Los pinipedos como acumuladores de metales pesados	7
1.3 El mercurio	9
1.4 El cadmio	10
1.5 Algunos sucesos vinculados con mercurio y cadmio	11
1.6 Antecedentes a nivel mundial y local	12
2. Objetivo general.....	15
2.1 Objetivos específicos.....	15
2.2 Hipótesis	15
3. Materiales y métodos.....	17
3.1 Área de estudio.....	17
3.2 Especies consideradas.....	18
3.3 Metales pesados analizados.....	19
3.4 Muestreo	19
3.5 Laboratorio.....	22
3.5.1 Preparación de las muestras.....	22
3.5.2 Principio del método.....	23
3.5.3 Determinación de mercurio y cadmio.....	24
3.5.4 Índice de recuperación	26
3.6. Cálculos y análisis estadísticos.....	26
4. Resultados	27
4.1 Efecto del estado de descomposición de la muestra sobre la determinación del contenido de metales para ambas especies.....	28
4.2 Relación entre la concentración del metal y el sexo en <i>A. australis</i>	30
4.3 Relación entre la concentración del metal y la talla para ambas especies	31
4.4 Relación entre la concentración del metal entre ambas especies.....	32
5. Discusión.....	34
5.1 Aspectos del muestreo.....	34
5.2 Aspectos metodológicos.....	35
5.3 Concentración de metales en función de la talla.....	36
5.4 Concentración de metales en función del estado de descomposición de la muestra	38
5.5 Concentración de metales en función del sexo.....	39
5.6 Diferencias en la concentración de metales entre especies.....	41
5.7 Consideraciones finales	45
6. Conclusiones y puntos a trabajar.....	49
7. Perspectivas	51
8. Bibliografía.....	52

Resumen

El león marino sudamericano, *Otaria flavescens* y el lobo fino austral, *Arctocephalus australis*, son las únicas dos especies de pinnípedos que viven y se reproducen en las costas uruguayas y, como depredadores superiores en los ecosistemas marinos, acumulan diferentes concentraciones de metales pesados en sus tejidos a través de su dieta, destacándose el mercurio en el hígado y el cadmio en los riñones, lo que los convierte en potenciales indicadores del estado del ambiente. El objetivo del presente trabajo fue analizar la concentración de mercurio y cadmio en hígado y riñón, respectivamente, de ambas especies y evaluar si existen diferencias entre ellas o según el sexo o estado de descomposición del animal al momento de la toma de muestras. Se analizaron muestras de 25 *A. australis* y 9 *O. flavescens* encontrados muertos a lo largo de la costa de Cabo Polonio, Rocha. Se determinó el contenido de mercurio total en hígado por espectrofotometría de absorción atómica (EAA) por la técnica de vapores fríos y de cadmio en riñón por EAA con llama de aire-acetileno según métodos estandarizados. Tanto para el mercurio como para el cadmio se observó una relación positiva significativa con la talla. Dado que no se contaba con un número suficiente de muestras de *O. flavescens* machos solo se pudo determinar la relación entre el sexo y la concentración de metales en *A. australis*. Para el mercurio no se encontraron diferencias significativas por sexo mientras que para el cadmio sí se encontraron diferencias significativas por sexo. Por otra parte, si bien estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los estados de descomposición con respecto a la concentración de metales, el estado de descomposición avanzado muestra cierto desvío en comparación con los otros estados que sumado al bajo número de muestras impide asegurar que no afecta la concentración de metales en las muestras. Los mayores valores de mercurio correspondieron a *O. flavescens* mientras que los de cadmio correspondieron a *A. australis*. Esto concordaría con la composición en cadmio y mercurio reportada para los ítem presa más abundantes en la dieta de *A. australis* y *O. flavescens*. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre ambas especies en la concentración de mercurio pero si en la de cadmio.

Mucho se ha avanzado en la región en este tema, no ocurriendo lo mismo en Uruguay, en donde son escasos los estudios de metales pesados que involucren mamíferos marinos. El presente trabajo pretende ser un aporte a la biología de ambas especies de pinnípedos de la costa atlántica del Uruguay a través del estudio de los metales pesados y su relación con el ambiente.

1. Introducción

1.1 La contaminación ambiental y los metales pesados

Año tras año el tema de la contaminación ambiental despierta el interés de cada vez más personas debido a que es un problema que afecta a la mayoría de los ecosistemas y es en parte consecuencia de las actividades antrópicas como la industria, agricultura y las actividades asociadas al transporte, los servicios y el hogar. Los mares del mundo son el destino final para la mayor parte de los desechos y productos resultados de la actividad humana, siendo esto un verdadero inconveniente debido a que brindan una gran variedad de recursos y servicios, entre los cuales se encuentra principalmente la provisión de alimentos, además de cumplir una importante función en el almacenamiento y reciclado de nutrientes, la regulación del balance hídrico y el filtrado de contaminantes. Los efectos de la contaminación ambiental se ven reflejados en la degradación, fragmentación y pérdida de ambientes (Gray *et al.*, 2002) así como en la disminución en la biodiversidad.

Entre los contaminantes más comunes se encuentran el dióxido de carbono (CO₂), óxidos de nitrógeno (NO_x), cloruro de hidrógeno (HCl), dióxido de azufre (SO₂), compuestos orgánicos de síntesis, como los hidrocarburos alifáticos y aromáticos (tolueno, xileno, bencenos), ésteres, éteres, cetonas, aminas, bifenilos y trifenilos policlorados (PCB`s y PCT`s), residuos sólidos y los metales pesados. Las emisiones antropogénicas de tres de los metales pesados reconocidos por su toxicidad, mercurio, cadmio y plomo, son un tema de gran preocupación debido al aumento acelerado de las mismas año tras año, no sólo a nivel local, sino también mundial debido al transporte atmosférico y posterior deposición de los contaminantes lejos de su lugar de origen (Furness y Rainbow, 1996, Ruelas- Inzunza *et al.*, 2003).

Los metales pesados (metales o metaloides que poseen una densidad mayor a 6 g/cm³), son elementos naturales presentes en la corteza terrestre y que se encuentran de forma natural en el agua de mar (Clark *et al.*, 1997). Algunos de ellos son esenciales para el funcionamiento metabólico de los

organismos, interviniendo en el transporte de oxígeno, como el cobre y el hierro, o formando parte de cofactores enzimáticos o metaloenzimas, como el cobre, cobalto, manganeso, molibdeno, selenio y zinc. Otros como el mercurio y el cadmio no son esenciales y se acumulan provocando efectos nocivos tales como cambios en la permeabilidad de la membrana de los eritrocitos de mamíferos produciendo la inhibición de la entrada de glucosa, siendo altamente tóxicos para los organismos (Furness y Rainbow, 1996).

Todos los metales, biológicamente esenciales o no, son potencialmente tóxicos para los organismos dependiendo su toxicidad de las características del metal como ser lipoficidad, hidroficidad, resistencia a la degradación (Konasewich *et al.*, 1982), la especie molecular que los contenga, las características físico-químicas del medio y su biodisponibilidad (Furness y Rainbow, 1996). Además, los metales pesados no son biodegradables como lo son los compuestos orgánicos, por lo que tienden a acumularse en el medio (Andre *et al.*, 1991 en Ruelas-Inzunza *et al.*, 2003).

Los efectos tóxicos en los organismos ocurren cuando los mecanismos de excreción, metabólicos, de almacenamiento y detoxificación no son capaces de superar las tasas de entrada. Esta capacidad puede variar entre *phyla*, especies, poblaciones e incluso entre individuos y depende del estadio de vida del mismo (Furness y Rainbow, 1996). Cuando los animales no pueden regular los niveles fisiológicos de los metales mediante excreción, una estrategia alternativa que aparece es la detoxificación y posterior almacenamiento de los metales en su forma menos tóxica. Los sistemas de detoxificación de metales incluyen la unión a proteínas (metalotioneinas), el secuestro en lisosomas, el secuestro en gránulos de calcio, el secuestro en células especializadas en invertebrados y la presencia de selenio como protección contra la toxicidad del mercurio (O' Shea, 1999). Los efectos de protección del selenio incluyen la redistribución del mercurio, la competencia por los sitios de unión, la formación de complejos Se-Hg, la conversión de formas tóxicas en formas menos tóxicas y la prevención de daños oxidativos (O' Shea, 1999). Las metalotioneinas (MT) son una familia de proteínas que presentan afinidad por los metales formando complejos de 4 a 12 átomos/mol de los iones de metales pesados como zinc, cobre, cadmio, mercurio y plata mediante puentes de tiolato. Su producción es

inducida por la presencia de cationes divalentes como cadmio, cobre, zinc y mercurio, por lo que pueden ser utilizadas como indicadores de un proceso de contaminación dado que en condiciones normales se encuentran a bajas concentraciones en los tejidos (Furness y Rainbow, 1996).

Tres procesos dinámicos, biodisponibilidad, bioacumulación y biomagnificación, regulan la toxicidad de los metales. La biodisponibilidad indica en qué medida una sustancia es absorbida por un organismo y distribuida en una zona del mismo (Naciones Unidas, 2005). La biodisponibilidad del metal en el ambiente depende de la forma en que éste se encuentre en el medio, ya sea en forma soluble o particulada, la presencia de otros metales que puedan actuar de forma aditiva, antagónica o sinergista, factores ambientales como salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, pH y luz y factores bióticos como la condición fisiológica de los individuos, estadio de vida, tamaño y posición trófica (Bryan, 1971 en Viana, 2001). Como ejemplo, la concentración metálica en sedimentos marinos y estuarinos no sólo estará determinada por el ingreso de metales al ambiente, reacciones en la superficie de las partículas que influyen en la cantidad de metales adsorbidos, reacciones de oxido-reducción y diferencias en la química de las partículas que afecta la formación de las mismas y la adsorción de los metales; cuanto menor es el tamaño de las partículas que forman parte del sedimento mayor es la adsorción de los metales a las mismas (Furness y Rainbow, 1996). La bioacumulación se refiere a la acumulación neta a lo largo del tiempo de una sustancia en un organismo tanto a partir de fuentes bióticas (otros organismos) como abióticas (suelo, aire y agua) (UNEP, 2002). La biomagnificación es el proceso por el cual los contaminantes químicos se concentran sucesivamente en cada eslabón de la trama trófica (Beck *et al.*, 1997).

Muchos contaminantes químicos, entre ellos los metales pesados, son transportados desde la atmósfera al océano en donde ingresan a la base de las cadenas tróficas al ser absorbidos a través de un proceso pasivo por los organismos del fitoplancton. Los mismos llegan a acumular los metales a concentraciones 10^4 - 10^6 veces más que las concentraciones de los metales presentes en el ambiente (Hargrave *et al.*, 2000). Éstos son posteriormente consumidos por el zooplancton, seguido por los peces y continuando su ruta a

medida que avanzan de nivel trófico, incrementando su concentración a niveles considerables, hasta llegar a los depredadores superiores (Bard, 1999). Los mamíferos, como depredadores superiores en los ecosistemas marinos, acumulan diferentes concentraciones de metales pesados en sus tejidos dependiendo del nivel trófico de la presa, de las condiciones ambientales y de su capacidad de detoxificación (Wagemann y Muir, 1984 en Ruelas-Inzunza *et al.*, 2003). Así, la presencia de determinados niveles de estos metales en los organismos puede utilizarse como indicador de un proceso de contaminación inorgánica en el ambiente que habitan (Gerpe *et al.*, 2002).

1.2 Los pinnípedos como acumuladores de metales pesados

El león marino sudamericano, *Otaria flavescens* y el lobo fino austral, *Arctocephalus australis* son las únicas dos especies de pinnípedos que viven y se reproducen en las costas uruguayas (Szteren *et al.*, 2004). Ambas especies de pinnípedos presentan un alto contenido lipídico en algunos de sus tejidos lo que los convierte en potenciales bioacumuladores de contaminantes lipofílicos, entre los que se destacan el mercurio y el cadmio. Por otra parte son organismos de larga vida y consumidores de alto nivel en la trama trófica, hecho que permite medir cantidades importantes de los metales que acumulan (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2003). Se encuentra bien establecido que en ambas especies el hígado y los riñones son los órganos diana para la acumulación de mercurio y cadmio respectivamente (Moreno *et al.*, 1984; Marcovecchio *et al.*, 1990; Malcolm *et al.*, 1994; Szefer *et al.*, 1994; Caurant y Amiard-Triquet, 1995; Law *et al.*, 1996 en Gerpe *et al.*, 2002).

O. flavescens, conocida también como “lobo marino de un pelo” o “lobo común”, se encuentra distribuida a lo largo de las costas del Océano Atlántico y Pacífico en América del Sur desde Torres, al sur de Brasil, hasta Cabo de Hornos en el extremo sur de la costa del Océano Atlántico y desde Cabo de Hornos hasta Zorritos en el norte de Perú en el Océano Pacífico (Vaz-Ferreira, 1982; Cappozzo *et al.*, 1991). En las costas del Atlántico se distinguen dos áreas de reproducción: una en las costas de Uruguay en Isla e Islote de Lobos (35°02`S, 52°55`W), Islas Rasa, Encantada e Islote en Cabo Polonio (34°24`S, 53°46`W), en Isla del Marco (perteneciente al grupo de islas de

Castillo Grande) al SW de la desembocadura del Arroyo Valizas y en Islote Coronilla (33°55`S, 53°30`W) (Vaz-Ferreira, 1982), con una población estimada de 18.000 individuos (Ponce de León, 2008) y la segunda a lo largo de la costa patagónica con unas 31 colonias de aproximadamente 80.000 individuos en total (Reyes *et al.*, 1999; Dans *et al.*, 2004).

A. australis, conocido también como “oso marino”, “lobo fino” o “lobo marino de dos pelos” (Vaz-Ferreira, 1982), se distribuye a lo largo de las costas del Océano Atlántico y Pacífico de América del sur, siendo una de las especies de lobos marinos de más amplia distribución en el hemisferio sur (Bonner, 1981). En Uruguay las colonias reproductivas se encuentran en Isla e Islote de Lobos, Islas de Torres (Islas Rasa, Encantada e Islote), Islas del Marco e Islote Coronilla (Vaz Ferreira, 1956); con una población de entre 340.000 y 360.000 individuos (Ponce de León, 2008) y una tasa de crecimiento anual de 1.4% (Lima y Páez, 1997) son la población más grande del mundo.

Ambas especies se encuentran entre los depredadores superiores en el ecosistema marino uruguayo. *O. flavescens*, se caracteriza por presentar hábitos tróficos costeros, siendo poco frecuente su avistamiento más allá de las 50 millas de la costa. Ello explica la fuerte interacción competitiva que ciertos ejemplares de la especie ejercen sobre la actividad humana en la franja costera (Sielfeld, 1999). Consume preferentemente peces como brótola (*Urophycis brasiliensis*), pescadilla (*Cynoscion guatucupa*), corvina (*Micropogonia furnieri*), cazón (*Mustelus schmitti*) y distintas especies de crustáceos como calamar (*Illex argentinus*) (Ximenez y Langguth, 2002). Estudios realizados en Argentina muestran a *O. flavescens* como un depredador generalista y oportunista a la vez, que consume un amplio rango de especies principalmente aquellas de hábitos pelágicos y demersales, capturando aquellas especies que se encuentren en mayor número (Suárez *et al.*, 2005). La dieta de *A. australis* se basa en peces teleósteos, calamares y camarones de distintas especies (Pin *et al.*, 1996, Ximenez y Langguth, 2002). Si bien se alimenta de presas de distintos tamaños estos nunca superan los 200g. Se ha sugerido que *A. australis* presenta hábitos tróficos generalistas con el potencial de depredar en un amplio rango de especies. Estudios tróficos en base al contenido de tracto digestivo y en fecas determinaron que su dieta se compone de cefalópodos, como el calamar de aleta corta (*Illex argentinus*) y calamarete (*Loligo*

sanpaulensi) y de peces como pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) y pez sable (*Trichirius lepturus*), ambas pelágicas demersales, anchoíta (*Engraulis anchoita*) y anchoa marina (*Anchoa mitchilli*), ambas típicamente marinas (Pin *et al.*, 1996; Naya *et al.*, 2002; Ponce de León *et al.*, 1988).

1.3 El mercurio

Este elemento no esencial, conocido por su toxicidad puede ingresar al ambiente producto de actividades como minería, combustión de combustibles fósiles, fabricación de papel, en la industria cloro-alkalina en la producción de soda cáustica, en la fabricación de barómetros y termómetros, en la fabricación de lámparas, como amalgamas dentales, como fungicida y pesticida y como preservador en las pinturas, pero también puede presentarse de forma natural, como por ejemplo, en las emisiones volcánicas y en los afloramientos del Pacífico ecuatorial (Kim y Fitzgerald, 1986 en O'Shea, 1999). Ingresa desde la atmósfera a la tierra en donde microorganismos del sedimento convierten las formas orgánicas e inorgánicas en formas metiladas, más tóxicas, que son solubles en agua e ingresan por absorción a las redes tróficas acuáticas (O'Shea, 1999). Así pues, puede encontrarse en el ambiente marino tanto en forma inorgánica como orgánica, acumulándose principalmente en el hígado de mamíferos bajo la forma inorgánica, seguido de los riñones y por último del músculo, predominando aquí la forma orgánica. En los peces consumidos por los pinnípedos predomina en el hígado y en forma orgánica, lo que hace pensar que en el hígado de los pinnípedos se lleva a cabo la detoxificación desde la forma orgánica a la inorgánica (Furness y Rainbow, 1996). La concentración de mercurio en pinnípedos está relacionada con la dieta y con el proceso de bioacumulación, observándose esto en especies como *Arctocephalus pusillus* (Bacher, 1985), *Otaria flavescens* (Peña *et al.*, 1988) y *Arctocephalus australis* (Gerpe, 1990 en Marcovecchio *et al.*, 1994). También se ha observado que aquellas especies que consumen peces exhiben elevadas concentraciones de mercurio a diferencia de aquellas que consumen organismos bentónicos (Furness y Rainbow, 1996). La concentración de mercurio tanto orgánico como inorgánico se correlaciona de forma positiva con la longitud del cuerpo en los mamíferos marinos (Arima y Nagakura 1979; Wagemann *et al.*, 1983; Joiris *et*

al., 1991 en Beckvar *et al.* 1996) y la vida media estimada del mercurio total en pinnípedos es de aproximadamente 1.4 años (Eisler, 1987; Andre *et al.*, 1991b en Beckvar *et al.*, 1996). Los efectos neurotóxicos de este metal son los más conocidos pero también se lo considera un nefro e inmunotóxico, mutagénico y un elemento capaz de cruzar la barrera transplacentaria (O'Shea, 1999). Al igual que el cadmio, el efecto final del mercurio en el cuerpo es la inhibición de la actividad enzimática y daños celulares, por ejemplo afectando el metabolismo mineral de elementos como el sodio y el potasio e inhibiendo el mecanismo de transporte activo a través de la disipación del gradiente normal de cationes. Bryan (1984) estableció que el mercurio y más específicamente el metilmercurio es el único metal para el cual existe evidencia de biomagnificación a través de las cadenas tróficas marinas (Furness y Rainbow, 1996).

1.4 El cadmio

Este metal pesado no esencial para los organismos, se presenta de forma natural en el ambiente, en el sulfuro de hierro en altas concentraciones pero también en suelos, rocas, carbón y fertilizantes minerales, con una distribución media de 0.1mg/kg en la corteza terrestre (Nordberg y Nordberg, 2002) y una vida media del orden de los 10 a 25 años (Ikemoto *et al.*, 2004). También puede ser producto de varios procesos industriales como minería, producción de petróleo, baterías, pinturas y reactivos nucleares o subproducto en la producción de metales como cobre, plomo y zinc. Se lo encuentra mayoritariamente formando compuestos químicos con oxígeno, flúor, cloro y sulfuro. Por ejemplo, el bromuro y yoduro de cadmio son utilizados en fotografía y fotograbado; el sulfuro de cadmio es utilizado en pinturas de gran calidad, barniz y tintas; el óxido de cadmio es utilizado en electrodos de baterías de níquel-cadmio. También es utilizado para proteger de la corrosión al cobre, acero y hierro.

Algunos de los efectos tóxicos producto de la exposición al cadmio en mamíferos son desórdenes en el sistema circulatorio, nervioso y reproductor, particularmente en machos, así como patologías en el sistema renal (O'Shea, 1999). Una concentración de Cd de 50mg/kg de peso húmedo en riñón es

considerada la concentración mínima de Cd que causa disfunciones renales en humanos (Nordberg y Nordberg, 2002) y proteinuria. En pinnípedos, el cadmio se acumula mayoritariamente en los riñones, seguido del hígado y por último en el músculo (Furness y Rainbow, 1996). Además la concentración del mismo aumenta con la edad como se ha visto en *Arctocephalus gazella* (Malcolm *et al.*, 1994 en O'Shea, 1999), *Callorhinus ursinus* (Goldblatt y Anthony, 1983 en O'Shea, 1999) y *Arctocephalus australis* (Gerpe, 1990; Gerpe *et al.*, 1990 y Marcovecchio *et al.*, 1991 en Marcovecchio *et al.*, 1994). La dieta juega un papel fundamental en los niveles de cadmio encontrados en pinnípedos dado que se alimentan de cefalópodos y crustáceos decápodos quienes son grandes acumuladores de dicho metal (Furness y Rainbow, 1996; Bustamante *et al.*, 1998).

1.5 Algunos sucesos vinculados con mercurio y cadmio

Los efectos tóxicos de los metales se pueden ver a escala individual, poblacional, ecosistémica, afectando la composición de especies y producción en los distintos niveles o puede ser de forma directa afectando al hombre a través de la dieta (Furness y Rainbow, 1996). A lo largo de la historia numerosos sucesos relacionados con metales han dejado su huella en diferentes partes del mundo. Uno de los casos más recordados es el ocurrido a causa del mercurio en la bahía de Minamata en Japón en el período 1953-1960. Se constató una enfermedad de origen neurológico que produjo un total de 111 casos de intoxicación por mercurio y 43 muertes en aquellos habitantes de la zona que consumían productos del mar de la bahía. El mercurio, más precisamente el metilmercurio era producto de la descarga de efluentes de una planta cloro-alcalina. Se produjeron casos de defectos congénitos en recién nacidos cuyas madres habían consumido productos marinos contaminados. Se determinó que el mercurio total en productos del mar derivados de la bahía de Minamata era del orden de los 5-20ppm (Manahan, 2000). Otro caso conocido es el ocurrido cerca de la bahía de Toyama en Japón en donde los habitantes de la zona ingirieron alimentos cosechados que fueron regados con agua contaminada por cadmio por los efluentes proveniente de una mina. Los mismos sufrieron lo que se conoce como enfermedad "itai-itai" que provoca

fuertes dolores en la espalda y las piernas, deformaciones del esqueleto y susceptibilidad a fractura de huesos. Dicha enfermedad es producto de la pérdida de calcio por daños en los riñones provocados por el cadmio (O'Shea, 1999).

Como forma de prevención a las enfermedades causadas por estos elementos y de control, Organismos internacionales como FAO (Food and Agriculture Organization), la Comunidad Europea y EPA (Environmental Protection Agency) presentan todos los años los límites máximos admisibles de metales pesados que un alimento puede contener. Uruguay, como país exportador de productos del mar, lleva a cabo controles entre los que se encuentra la determinación de metales pesados como el mercurio y cadmio. En Uruguay, para el caso del mercurio se acepta una concentración máxima en carne de pescado de 0.5 µg de mercurio/g de peso húmedo (Decreto 315/994 del 05/07/94, Reglamento Bromatológico Nacional). Para el cadmio, la reglamentación uruguaya se refiere a alimentos en general siendo el límite máximo admitido de 0.2 µg de cadmio/g de alimento seco, no existiendo una reglamentación específica para productos de la pesca como en otros países en que los límites varían entre 0.5 y 1.0 µg de cadmio/ g de peso seco.

1.6 Antecedentes a nivel mundial y local

Diferentes estudios se han venido llevando a cabo en varios países desde la década del sesenta con el fin de reportar la concentración de metales pesados en distintas especies de mamíferos marinos así como los procesos asociados al metabolismo de dichos metales. Estas investigaciones son motivadas, por un lado, por el incremento en las últimas décadas de grandes mortalidades de varias especies de mamíferos marinos que no pueden ser explicadas (Lavigne y Schmitz, 1990 en Marcovecchio *et al.*, 1994) y por otro por el reconocimiento del aumento acelerado de las concentraciones de contaminantes en todo el mundo. Cabe destacar los trabajos de Gaskin *et al.* (1974), Bacher (1985), Muir *et al.* (1988), Law *et al.* (1992), O'Shea y Brownell (1994), Aguilar y Borrell (1995), Sanpera *et al.* (1993), Parsons *et al.* (1999), Hernández *et al.* (2000), entre otros. Para el Atlántico Sudoccidental los trabajos se remontan a la década del ochenta siendo los principales los de

Moreno *et al.* (1984), Peña *et al.* (1988), Marcovecchio *et al.* (1990), Marcovecchio *et al.* (1994), Gerpe (1996) y Gerpe *et al.* (2002)

Mucho se ha avanzado en la región en este tema, en particular en Argentina y Brasil, no ocurriendo lo mismo en Uruguay, en donde son escasos los estudios dedicados a determinar la concentración de metales pesados para diferentes organismos. Para Uruguay se destacan los estudios en ictiofauna de Mattos y Torrejón (1976), Méndez *et al.* (2001), Viana *et al.* (2005) y el trabajo de Foglia (2008) en el delfín del Río de La Plata (*Pontoporia blainvillei*), no encontrándose antecedentes en estudios que involucren pinnípedos. En el trabajo de Mattos y Torrejón (1976) se determinó mercurio en músculo de corvina (*Micropogonias furnieri*), pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) y gatuso (*Mustelus schmitti*). Méndez y colaboradores (2001) realizaron la determinación de mercurio total en muestras de tejido muscular de pez espada (*Xiphiaws gladius*) obtenidas del Atlántico sudoccidental, encontrando niveles moderados que se incrementaban con el tamaño del animal, mostrando un proceso de bioacumulación. Viana y colaboradores (2005) realizaron la determinación de cobre, zinc y mercurio en muestras de músculo e hígado de siete especies de peces con diferentes hábitos tróficos obtenidas de cinco puntos de la costa uruguaya del Río de La Plata. En dicho trabajo se concluyó que los valores de mercurio encontrados estaban por debajo de los límites permisibles para la legislatura uruguaya. Foglia (2008) reportó niveles de mercurio y cadmio en muestras del delfín del Río de La Plata (*Pontoporia blainvillei*) en las costas atlántica uruguaya, evidenciando un proceso de bioacumulación para ambos metales.

Si bien en Uruguay no existe un programa dedicado a monitorear la ocurrencia y distribución de los metales pesados en diferentes tejidos de mamíferos marinos como existe en Argentina desde 1985 (Marcovecchio *et al.*, 1994), nuestro país no ha estado ajeno al problema que significa la contaminación. Así, desde 1994 existe la Ley de Impacto Ambiental n° 16.466 en donde se declara de interés general la protección del medio ambiente contra cualquier tipo de depredación, destrucción o contaminación y el Código de aguas de la Ley n° 14.859 artículo 144 en donde se establece la prohibición genérica de introducir en las aguas o colocar en lugares desde los cuales puedan derivar hacia ellas, sustancias, materiales o energías susceptibles de

poner en peligro la salud humana o animal, deteriorar el medio ambiente o provocar daños (Solari *et al.*, 1997 en Viana, 2001).

Dada la importancia de conocer el grado de contaminación ambiental debido a la presencia de metales pesados nocivos para la salud como lo son el mercurio y el cadmio y en vista de que la concentración de metales en mamíferos marinos puede ser utilizada como indicador de contaminación acuática, se desarrollo el trabajo que a continuación se expone.

2. Objetivo general

Determinar la concentración de mercurio total y cadmio en muestras de hígado y riñones, respectivamente, de león marino sudamericano *Otaria flavescens* y lobo fino austral *Arctocephalus australis*, dos especies de pinnípedos que habitan y se reproducen en las costas uruguayas.

2.1 Objetivos específicos

1. Determinar si la condición (estado de descomposición) en que se encuentra el animal muerto en el momento de tomar la muestra influye en los valores de concentración de metal analizado.
2. Analizar si existen diferencias por sexo en el contenido de estos metales en ambas especies.
3. Evaluar la bioacumulación de mercurio y cadmio en ambas especies a través de relación entre la concentración del metal y la talla de los organismos.
4. Determinar cuál de las especies estudiadas presentan mayores concentraciones de cada metal y analizar la relación con su hábito alimenticio.

2.2 Hipótesis

1. No existen diferencias por sexo en la concentración de ambos metales dado que no hay evidencia de una dieta diferencial entre machos y hembras de ambas especies.

2. Tanto el mercurio como el cadmio se encuentran en mayor concentración cuanto mayor sea la edad y por lo tanto la talla del organismo para ambas especies, lo que evidenciaría un proceso de bioacumulación.
3. *Otaria flavescens* presenta una mayor concentración de mercurio que *Arctocephalus australis* dado que su dieta se basa principalmente en peces como pescadilla de calada *Cynoscion guatucupa*, la cual se ha demostrado acumula dicho metal (Viana, 2001), así como también tiburones y rayas los cuales son acumuladores de mercurio por alimentarse en niveles tróficos superiores (Ponce de León, 2008)
4. *Arctocephalus australis* presenta una mayor concentración de cadmio que *Otaria flavescens* debido a que su dieta se compone principalmente de cefalópodos (Naya *et al.*, 2002), los cuales acumulan fuertemente dicho metal.

3. Materiales y métodos

3.1 Área de estudio

Cabo Polonio ($34^{\circ}24'S, 53^{\circ}46'W$), ubicada en el departamento de Rocha, presenta una superficie terrestre aproximada de 5.000 hectáreas y una longitud de costas sobre el Océano Atlántico de unos 18 km. La zona forma parte de la reserva de Biosfera Bañados del Este, incorporada a la red de reservas del Programa el hombre y la Biosfera de UNESCO en 1976 y recientemente incorporada al SNAP, como primer Área Marina Protegida en la Zona costera uruguaya (Decreto 337/009). Presenta dos playas limitadas por puntas rocosas: Playa de la Ensenada o Playa Sur y la Playa de la Calavera o Playa Norte (Fig. 1) Cuenta con 3 islas que forman parte del grupo Islas de Torres: Isla Rasa ($34^{\circ}24'03'' S$) con una superficie de 2.1 hectáreas, Isla Encantada ($34^{\circ}24'29'' S$) con una superficie de 3.6 hectáreas e Islote ($34^{\circ}24'05'' S$) con una superficie de 1.8 hectáreas. Las playas, costas y puntas rocosas así como el conjunto de islas y aguas adyacentes de Cabo Polonio albergan, de forma transitoria o estable, una rica y variada fauna, entre los que se destacan *O. flavescens* y *A. australis* (DINAMA, 2009)

El área de estudio se seleccionó de acuerdo a la abundancia de ejemplares de ambas especies de pinnípedos en la zona producto de las colonias reproductoras de las islas. Para *A. australis*, la población aproximada es de 160.000 ejemplares, no encontrándose datos para *O. flavescens* en la zona (Ponce de León com. pers.)



Fig. 1. Ubicación de Cabo Polonio (A). Playas, Norte (B) y Sur (C).

3.2 *Especies consideradas*

La selección de las especies se realizó en base a que los pinnípedos se consideran depredadores superiores de los ecosistemas marinos (Riedman, 1990 en Naya *et al.*, 2002) y a que son las únicas dos especies, hasta el momento documentadas, que viven y se reproducen en las costas uruguayas (Ponce de León, 1997, Szteren *et al.*, 2004). Las muestras de *Otaria flavescens* y *Arctocephalus australis* (Fig. 2), se obtuvieron a partir de organismos muertos hallados en las playas Sur y Norte. Se realizaron 3 salidas durante los meses de enero, febrero y marzo de 2006. Las fechas se corresponden con la época de nacimiento de ambas especies y en donde se producen los mayores enfrentamientos entre machos por el dominio del territorio (Vaz-Ferreira, 1975). En Uruguay, los primeros nacimientos de *O. flavescens* ocurren en la segunda quincena de diciembre pero la mayor parte de ellos ocurre en el mes de enero con un pico cercano al decimoquinto día y termina los primeros días de febrero (Vaz-Ferreira, 1975), mientras que para *A. australis* comienza los últimos días de noviembre y principios de diciembre (Vaz-Ferreira, 1956). Es entonces cuando se puede llegar a encontrar mayor cantidad de animales muertos en la costa.

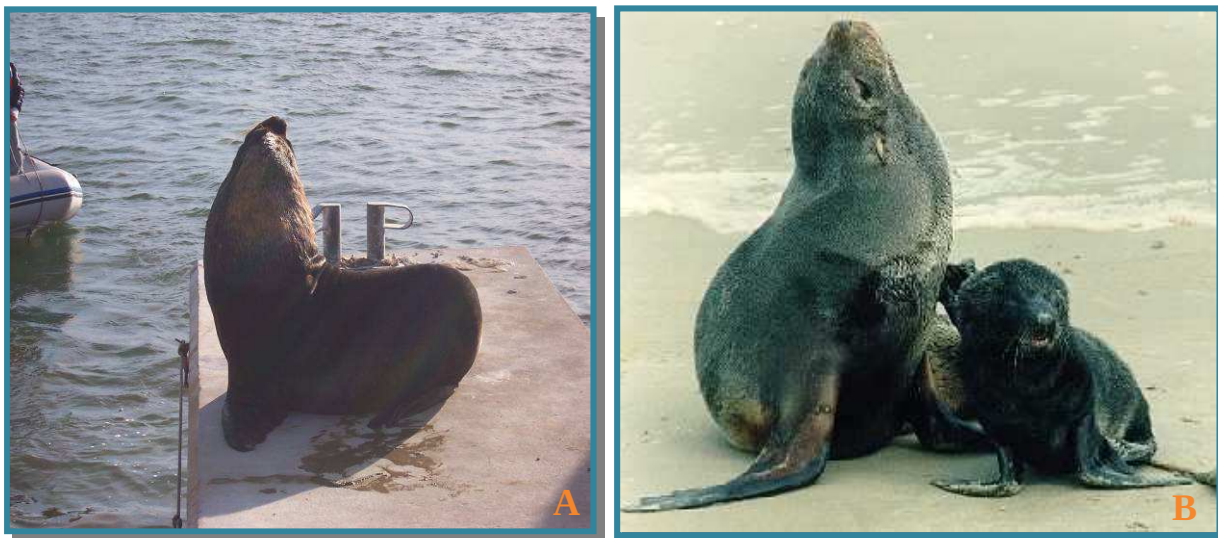


Fig. 2. Macho adulto de *O. flavescens* (A), hembra y su cría de *A. australis* (B).

3.3 Metales pesados analizados

Para la elección de los metales pesados a determinar se consideraron los siguientes parámetros:

- Hábitos tróficos de las especies a estudiar
- Importancia de estos elementos en el ambiente
- La existencia de trabajos previos en la región para su posterior comparación

3.4 Muestreo

Se realizaron recorridas por las playas de Cabo Polonio con el fin de encontrar animales muertos de las dos especies de pinnípedos. Una vez encontrado el animal se identificaba la especie *in situ* tomando como referencia: color y composición del pelaje, forma del hocico, forma y tamaño de las orejas y grosor de las aletas. Se tomaron fotografías de cada animal, identificándolo con un código referente a su especie. Debido a que en ocasiones la identificación *in situ* de la especie planteaba dudas dado el estado del animal o la falta de algún órgano externo clave, se realizó una posterior identificación conjunta con especialistas en base a las fotografías tomadas.

Para la determinación del sexo, se examinó la parte posterior ventral del animal para identificar un par de mamas, en el caso de la hembra, o la abertura genital del pene en el caso de los machos. Posteriormente se registró la longitud estándar (SL), la cual se determinó posicionando al animal en posición ventral (con el lado dorsal apoyado en el piso) y midiendo con centímetro desde la punta del hocico en línea recta hasta la punta de la cola.

Para categorizar el estado de descomposición del animal se utilizó un sistema numérico, en el que se adjudicaba al animal un valor del 1 al 4 de acuerdo con el estado de putrefacción del mismo al momento de la toma de la muestra teniendo en cuenta la coloración, textura e integridad de los órganos según describe EPA (1994). Para esta categorización se consideró la coloración, textura e integridad de los órganos de acuerdo con EPA (1994) (Tabla 1).

La categoría 1 se asignaba al animal encontrado en estado fresco, con menos de 24 horas de muerto, recién muerto o en *rigor mortis*, sin hinchazón, con pelos en todo su cuerpo, sin signos de depredación por animales carroñeros y sin decoloración ni degeneración de sus órganos. La categoría 2 correspondía al animal en estado de moderada descomposición, en donde podía presentar hinchazón pero los órganos no presentaban signos de degradación. La categoría 3 correspondía al estado de descomposición avanzada en donde al animal le falta parte del pelo, podía presentar signos de carroña y al realizar la biopsia los órganos presentaban los primeros signos de descomposición. La categoría 4 correspondía a un estado de descomposición inaceptable para la toma de muestra y en donde los órganos estaban desintegrados y difícilmente reconocibles y podían presentar parásitos.

La Fig. 3 muestra organismos en las diferentes categorías consideradas.

.



Fig. 3. Categorías adjudicadas a los diferentes estados de descomposición del animal en el momento del muestreo. A-B: categoría 1, C-D: categoría 2 y E-F: categoría 3.

Para la extracción de las muestras de hígado y riñón se realizó un corte en la cavidad abdominal del animal utilizando para ello un cuchillo de acero inoxidable (Fig.4). Se extrajo una muestra de 100g de la parte posterior del lóbulo anterior izquierdo del hígado, se colocó en una bolsa de polietileno (EPA, 1994), y se refrigeró in situ. El riñón izquierdo se guardó en una bolsa de polietileno y se refrigeró. Entre muestra y muestra los elementos de disección se lavaron con abundante agua destilada y alcohol.



Fig. 4. Corte abdominal de un ejemplar de *A. australis* en donde se indican la ubicación de los órganos muestreados.

3.5 Laboratorio

3.5.1 Preparación de las muestras

En el laboratorio de la estación de DINARA en Cabo Polonio se controló que cada muestra estuviese correctamente rotulada y cerrada herméticamente, colocándolas en un freezer a una temperatura de -20°C . Las muestras fueron transportadas congeladas desde Cabo Polonio hasta Montevideo en una conservadora con hielo.

En el Laboratorio de Análisis de Productos Pesqueros de DINARA (Montevideo) se prepararon submuestras a partir de las muestras colectadas. Las muestras se descongelaron hasta temperatura ambiente, se homogeneizaron en un multiprocesador y se extrajo una cantidad suficiente de sub-muestra para realizar los análisis de metales. Estas sub-muestras se rotularon y guardaron en bolsas de polietileno herméticamente cerradas en un freezer hasta su posterior análisis.

3.5.2 Principio del método

El contenido de mercurio se analizó mediante digestión ácida de la muestra y espectrofotometría de absorción atómica (EAA) por la técnica de vapores fríos según el método de Hatch y Ott (1968) modificado por Méndez *et al.* (2001). El cadmio se determinó por EAA con llama de aire-acetileno tras dilución de cenizas en solución de ácido nítrico (AOAC, 1995) en un equipo Shimadzu AA-680 (ver Fig. 5) Se utilizó un material de referencia IAEA-407 (Agencia Internacional de Energía Atómica, Austria) para la validación del método de análisis de mercurio.

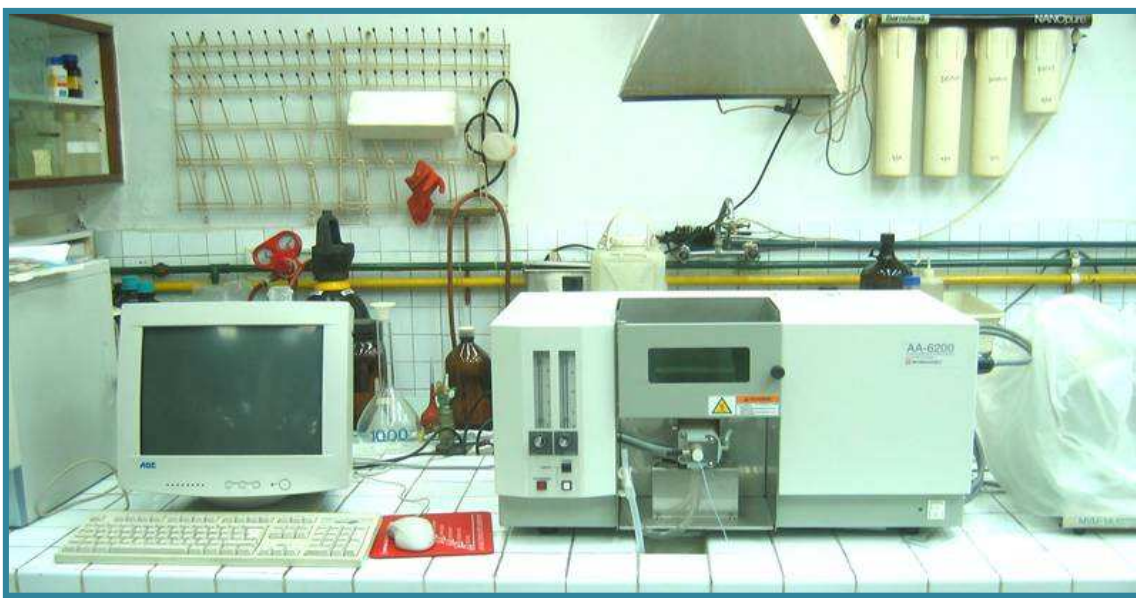


Fig. 5. Equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica Shimadzu AA-680 del Laboratorio de Análisis de Productos Pesqueros DINARA.

Los métodos espectroscópicos de análisis miden la cantidad de radiación emitida o absorbida por las especies atómicas o moleculares que analizan. La espectroscopia de absorción atómica es un método sensible utilizado en la determinación cuantitativa de más de 60 elementos metálicos o metaloides (Skoog y Leary, 1994).

En la EAA con llama, el elemento a analizar se dirige a través de la llama que produce el gas atómico. El proceso por el cual la muestra se convierte en vapor atómico se denomina atomización y es en esta etapa de la cual depende la precisión y exactitud de los métodos atómicos (Skoog y Leary, 1994). El

disolvente de las finas gotas del analito se evapora y las partículas se descomponen en átomos, iones y electrones. Las mismas, al ser irradiadas a una determinada longitud de onda por la lámpara de cátodo hueco, absorben energía, la cual es medida y es proporcional a la concentración del metal presente en la muestra.

En la EAA por vapor frío, el vapor del metal a analizar pasa a través de un desecante (perclorato de magnesio) a una celda de absorción donde el Hg absorbe energía a una determinada longitud de onda procedente de una lámpara de cátodo hueco, registrando el equipo dicha absorción, que también es proporcional a la cantidad de mercurio.

En teoría las medidas de absorción atómica habrían de cumplir la Ley de Beer: $A=abC$, en donde A es la absorbancia, a es la longitud de onda característica de la sustancia, b es la longitud del recorrido a través de la muestra y C es la concentración de la sustancia absorbida, siendo la absorbancia directamente proporcional a la concentración (Manahan, 2000).

3.5.3 Determinación de mercurio y cadmio

Dado que la respuesta depende de las condiciones ambientales y del equilibrio del equipo con que se trabaja, se debe preparar cada vez que se realiza un análisis, una curva de calibración que cubra el intervalo de concentraciones que se encuentran en la muestra (Skoog y Leary, 1994). Para el mercurio se determinó un rango lineal entre 0 y 1.5 $\mu\text{g Hg}$. Siempre antes de su análisis se prepararon a partir de una solución stock estándar de 1000 $\mu\text{g Hg/mL}$, diferentes diluciones de estándar que recibieron el mismo tratamiento que las muestras para obtener lecturas de 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1 y 1.5 mL. Para el cadmio se preparó a partir de la solución madre 1000 $\mu\text{g Cd/mL}$ una solución 1 $\mu\text{g Cd/mL}$ realizando las diluciones correspondientes con agua nanopura. A partir de dicha solución se prepararon las diluciones de 0, 0.04, 0.1, 0.2, 1 y 5 $\mu\text{g Cd/mL}$, concentraciones para las cuales la respuesta fue lineal. Con las lecturas de las soluciones estándares se construyeron curvas de calibración graficando absorbancia vs. concentración del estándar.

Para la determinación de mercurio se pesó 1,0 g de muestra de hígado homogeneizado en un tubo de ensayo de 50mL. Posteriormente se agregaron en cada tubo, 5mL de solución ácida (sulfonítrica: $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HNO}_3$ 1:1). Las muestras se digirieron durante 24 horas a temperatura ambiente. Aquí todo el mercurio presente en la muestra se transforma en Hg^{+1} y Hg^{2+} . A las 24 horas se agregaron 5mL de solución de permanganato de potasio (KMnO_4) al 10%, mezclando con vortex durante 30 segundos y se dejó reposar unos 30 minutos. El KMnO_4 hace que todo el mercurio se transforme en Hg^{+2} . Se agregaron 5mL de solución NaCl 10% NH_2OHCl 10% para neutralizar el exceso de permanganato de potasio y se mezcló con vortex hasta que desapareció el color morado. La solución resultante se llevó a 50ml en matraz aforado y se pasaron alícuotas a un frasco de vaporización. El volumen tomado dependió de la concentración de Hg de cada muestra, de manera que la medición cayera dentro del rango de respuesta lineal. Se agregó al frasco de vaporización aproximadamente 100mL de agua nanopura, una gota de silicona y, en el momento de la medición, 5mL de solución de cloruro estagnoso (SnCl_2). La silicona se utilizó para evitar la formación de espuma. El SnCl_2 transforma el Hg^{+2} en mercurio metálico Hg^0 . Se determinó el mercurio a una longitud de onda de 253.7nm. Se consideraron duplicados analíticos para cada muestra.

Para la determinación del cadmio en muestras de riñones se pesaron aproximadamente 10 g de muestra homogenizada en un crisol y se introdujeron en una mufla a 500 °C durante un poco mas de 8 horas. Luego que se enfriaron los crisoles se sacaron de la mufla y se agregó 2 mL de ácido nítrico concentrado (HNO_3). Se dejaron secar en una placa caliente en una campana extractora durante 15 minutos aproximadamente hasta que no quedara presencia de líquido en las muestras. Se introdujeron los crisoles nuevamente en la mufla por 1 hora a 500 °C. Luego de que se enfriaron, se limpiaron las paredes de los crisoles con agua nanopura. En el caso de que las muestras presentaran restos de partículas sólidas se las quebró con una varilla de vidrio. Se agregó 1mL de solución de ácido nítrico HNO_3 y 10mL aproximadamente de agua nanopura revolviendo con varilla de vidrio. Se trasvasó el contenido de los crisoles a un matraz aforado de 25 mL y se enrasó con agua nanopura. Las muestras se dejaron reposar unos 5 minutos. Pasado este tiempo se procedió con la medición a una longitud de onda de 228.8 nm. Cada muestra se procesó

por duplicado y del mismo modo se prepararon dos blancos con crisoles en los que no se agregó muestra y que recibieron el mismo tratamiento que las muestras.

3.5.4 Índice de recuperación

Se realizaron experiencias de recuperación a partir de muestras fortificadas con el fin de determinar la precisión del método empleado en la cuantificación de metales pesados. Mediante dicha experiencia se puede determinar la existencia de un efecto de la matriz que puede provocar una subestimación de la concentración final en la muestra.

3.6. Cálculos y análisis estadísticos

El análisis estadístico de los datos se realizó con los programas Statistica (Statsoft Inc., 1995) y Biostat 4.0 (Ayres *et al.*, 2005). La relación entre la concentración de metales con la longitud total se determinó mediante análisis de regresión simple y posterior ajuste de curvas, escogiéndose la curva con mayor r^2 . Se testeó la normalidad de los datos por medio del test de Kolmogorov-Smirnoff. Para determinar la relación entre la concentración de metales y el sexo, especie y estado de descomposición se realizó un análisis de la covarianza (ANCOVA), usando la talla como covariante. Se aplicó la transformación de logaritmo para normalizar las distribuciones y linealizar la relación con la talla. La homogeneidad de varianzas se testeó mediante el Test M de Box. (Sokal y Rohlf, 1981; Sanpera *et al.*, 1996).

4. Resultados

Se analizaron un total de 34 muestras de hígado y 34 muestras de riñón correspondientes a 9 organismos de *Otaria flavescens* y 25 *Arctocephalus australis* (Tabla 1). Entre las muestras de *A. australis*, 9 fueron machos y 16 hembras, mientras que para *O. flavescens* se analizó 1 macho y 8 hembras. El muestreo abarcó prácticamente todo el rango de tallas y grupos de edad (crías lactantes, juveniles y adultos) para ambas especies. El rango de tallas muestreado para *A. australis* fue 60-148 cm. y para *O. flavescens* 85-245 cm

En cuanto al estado de descomposición del animal en el momento del muestreo, un 44% de las muestras presentaban una moderada descomposición (categoría 2), un 41% se encontraban en estado fresco (categoría 1) y un 5% en descomposición avanzada (categoría 3) (Tabla 1).

Tabla 1- Especie, talla (SL en cm), sexo (M=macho, H=hembra) y estado de descomposición (ED) (1=fresco, 2=moderada descomposición 3=descomposición avanzada y 4=descomposición muy avanzada).

ESPECIE	SL	SEXO	ED	ESPECIE	SL	SEXO	ED
<i>A. australis</i>	132	m	2	<i>A. australis</i>	65	h	2
<i>A. australis</i>	65	m	1	<i>A. australis</i>	72	h	1
<i>A. australis</i>	68	m	2	<i>A. australis</i>	62	h	1
<i>A. australis</i>	77	m	2	<i>A. australis</i>	126	h	1
<i>A. australis</i>	68	m	1	<i>A. australis</i>	127	h	1
<i>A. australis</i>	86	m	2	<i>A. australis</i>	128	h	2
<i>A. australis</i>	72	m	2	<i>A. australis</i>	118	h	2
<i>A. australis</i>	72	m	2	<i>A. australis</i>	134	h	3
<i>A. australis</i>	69	m	1	<i>O. flavescens</i>	245	m	1
<i>A. australis</i>	144	h	3	<i>O. flavescens</i>	148	h	1
<i>A. australis</i>	60	h	3	<i>O. flavescens</i>	93	h	2
<i>A. australis</i>	86	h	2	<i>O. flavescens</i>	195	h	3
<i>A. australis</i>	148	h	3	<i>O. flavescens</i>	198	h	2
<i>A. australis</i>	61	h	1	<i>O. flavescens</i>	75	h	2
<i>A. australis</i>	68	h	1	<i>O. flavescens</i>	85	h	2
<i>A. australis</i>	64	h	1	<i>O. flavescens</i>	183	h	2
<i>A. australis</i>	67	h	1	<i>O. flavescens</i>	211	h	1

Los resultados del análisis de mercurio en hígado y cadmio en riñón para ambas especies se expresan en base húmeda como μg metal/g tejido analizado. Las concentraciones de mercurio fueron corregidas a partir de los ensayos de recuperación. Para el mercurio, dicha corrección, a partir del índice de recuperación (IR), dependió de la toma realizada tras la dilución de la muestra en 25 mL (Tabla 2). Para el cadmio el IR fue del 100% por lo que los datos no se corrigieron.

Tabla 2- Índice de Recuperación (IR %) del mercurio y su corrección.

Alícuota tomada de la dilución en 25ml (ml)	0.1	0.25-0.3	0.5	1-2	5	10	15
IR (%)	100	91	85	78	64	62	58

Las concentración media de Hg determinadas para *O. flavescens* fue de 63.1 $\mu\text{g/g}$ de hígado en base húmeda mientras que la concentración media de cadmio fue de 1.89 $\mu\text{g/g}$ de riñón en base húmeda. Para *A. australis* la concentración media de mercurio fue de 16.9 $\mu\text{g/g}$ mientras que la concentración de cadmio fue de 11.9 $\mu\text{g/g}$.

O. flavescens presentó el valor máximo de mercurio (199 $\mu\text{g/g}$) en hígado mientras que *A. australis* presento la concentración más alta de cadmio (88 $\mu\text{g/g}$) en riñón.

4.1 Efecto del estado de descomposición de la muestra sobre la determinación del contenido de metales para ambas especies

Se compararon las concentraciones de mercurio y cadmio en machos y hembras de *A. australis* por separado en función del estado de descomposición del animal, para evaluar si el estado de descomposición del animal en el momento del muestreo influye en la concentración del metal analizado. No se encontraron diferencias significativas en la concentración de mercurio ($p > 0.05$) ni en la concentración de cadmio ($p > 0.05$) para hembras de *A. australis* en función del estado de descomposición de la muestra. Al reunir hembras y

machos la relación no fue significativa para ambos metales ($p>0.05$) (Fig. 6). Para *O. flavescens* los datos colectados, fueron insuficiente para analizar esta relación, en donde entre las hembras dos se encontraban en estado 1, cinco en estado 2 y una en estado 3.

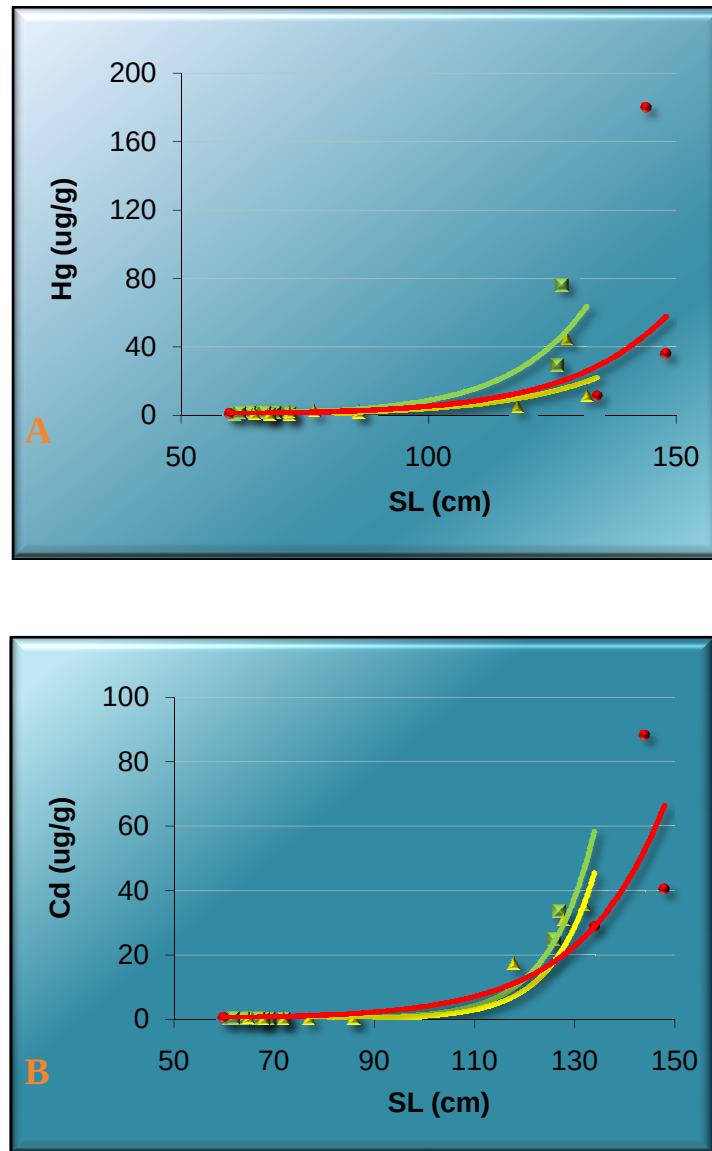


Fig. 6. Concentraciones (μg) de mercurio (A) y cadmio (B) para los distintos estados de descomposición de las muestras de *A. australis* en función de la talla. Colores y formas indican estados de descomposición, verde/cuadrado estado 1 (fresco), amarillo/triángulo estado 2 (moderada descomposición) y rojo/círculo estado 3 (descomposición avanzada).

4.2 Relación entre la concentración del metal y el sexo en *A. australis*

Este aspecto se analizó únicamente para *A. australis* debido a la escasez de muestras del sexo masculino para *O. flavescens*

No se encontraron diferencias significativas en la concentración del mercurio en hígado ($p>0.05$); las concentraciones de cadmio presentaron diferencias significativas ($p=0.014$), siendo el contenido de cadmio en riñones de hembras mayor que en machos (Figura 7). Estos resultados impiden agrupar hembras y machos para determinar la relación entre la concentración de cadmio y la talla de los organismos *A. australis*.

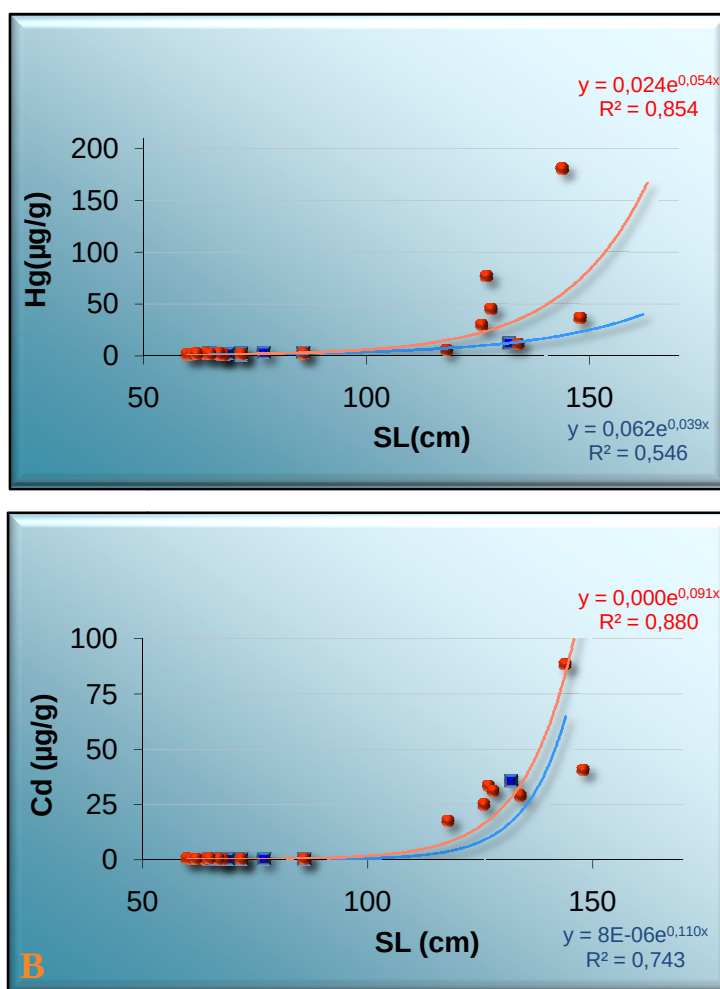


Fig. 7. Relación entre la concentración (µg/g) de mercurio (A) y cadmio (B) con la talla para hembras (color rojo/circulo) y machos (color azul/cuadrado) de *A. australis*.

4.3 Relación entre la concentración del metal y la talla para ambas especies

El análisis de regresión simple entre la concentración de mercurio y cadmio con la talla, considerando ambas especies, puede verse en la Figura 8, para hembras de *O. flavescens* y la Figura 9 para hembras y machos de *A. australis*. Se observó una correlación significativa entre las concentraciones de metales y la talla de hembras de *O. flavescens* ($p=0.002$ y $p=0.004$ para mercurio y cadmio respectivamente) (Figura 8). En *A. australis*, ambos sexos mostraron asociaciones significativas para ambos metales, donde las hembras presentaron un $p=0.007$ y $p=0.0003$ para mercurio y cadmio, respectivamente y los machos un $p=0.0001$ y $p=0.0006$ para mercurio y cadmio, respectivamente.

La mejor curva de ajuste para la concentración de metales en *O. flavescens* se obtuvo con un modelo geométrico, con un r^2 de 0.98 para el mercurio y 0.90 para el cadmio; *A. australis* presentó un ajuste de tipo exponencial, con un r^2 para mercurio de 0.54 y 0.85 y un r^2 para cadmio de 0.74 y 0.88, machos y hembras respectivamente. Cuando se consideran machos y hembras juntos el mejor ajuste resulta ser un modelo geométrico, con un r^2 para mercurio de 0.81. Dado que para el cadmio no se pueden agrupar machos y hembras no se determinó la relación entre la talla de ambos y la concentración de este metal.

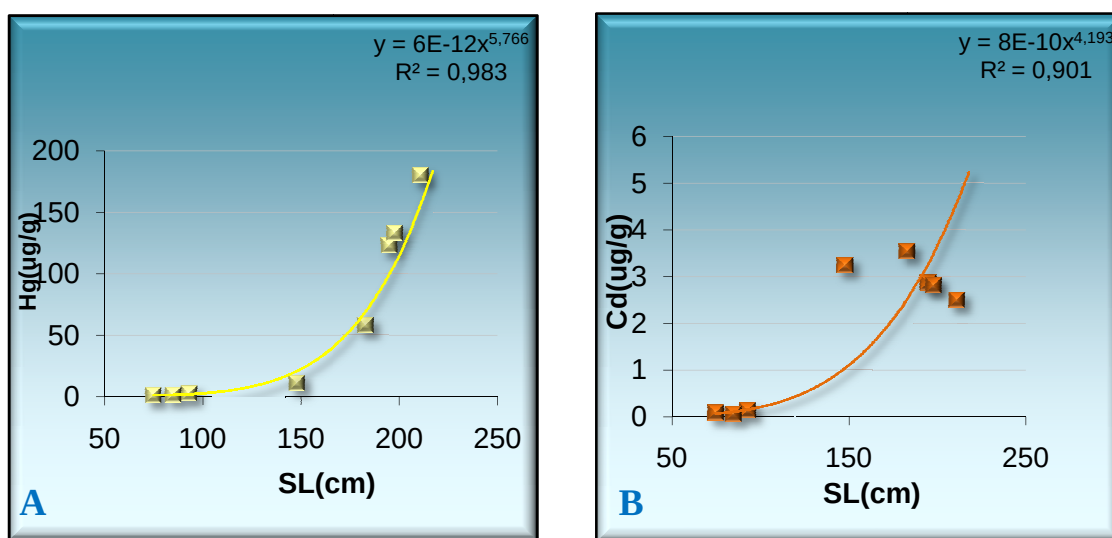


Fig. 8. Relación entre la concentración (μg/g) de mercurio (A) y cadmio (B) con la longitud estándar SL (cm) para hembras de *Otaria flavescens*.

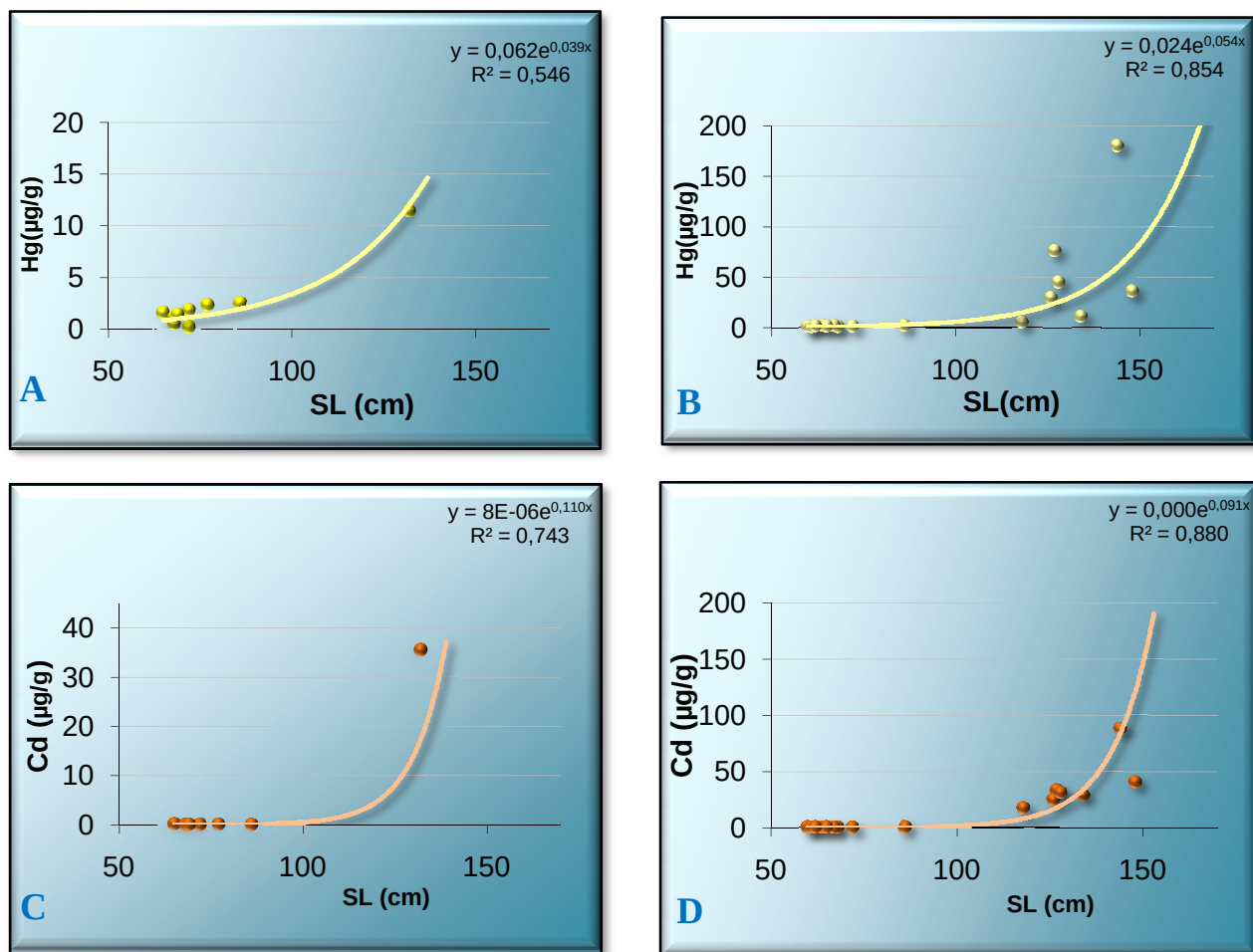


Fig. 9. Relación entre la concentración (μg) de mercurio y cadmio en machos (A y C) y hembras (B y D) con la longitud estándar SL (cm) en *A. australis*.

4.4 Relación entre la concentración del metal entre ambas especies

Dado que el sexo influye en la concentración de cadmio pero no en la de mercurio se comparó la concentración cadmio entre hembras de *A. australis* y *O. flavescens* (Fig. 10 A) y de mercurio entre hembras y machos de *A. australis* con hembras de *O. flavescens* (Fig.10 B). No se obtuvieron diferencias significativas entre ambas especies para el mercurio ($p=0.418$) pero si para el cadmio ($p=0.0007$), siendo notoria la mayor concentración de cadmio en muestras de *A. australis* en comparación con *O. flavescens*.

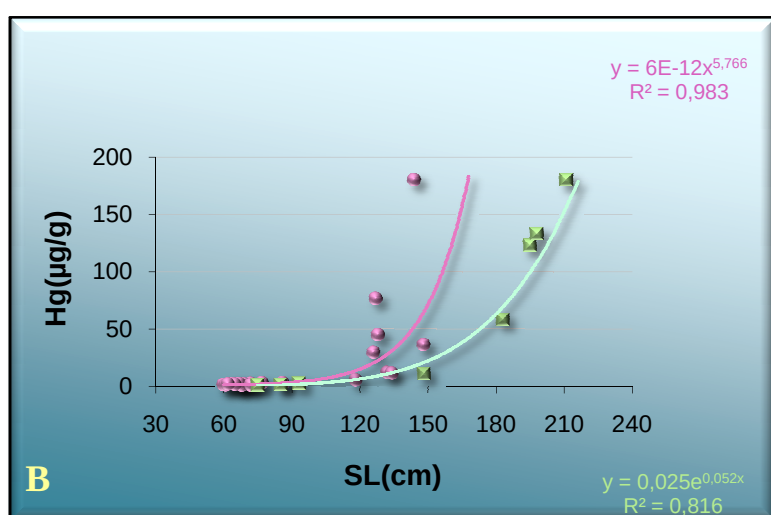
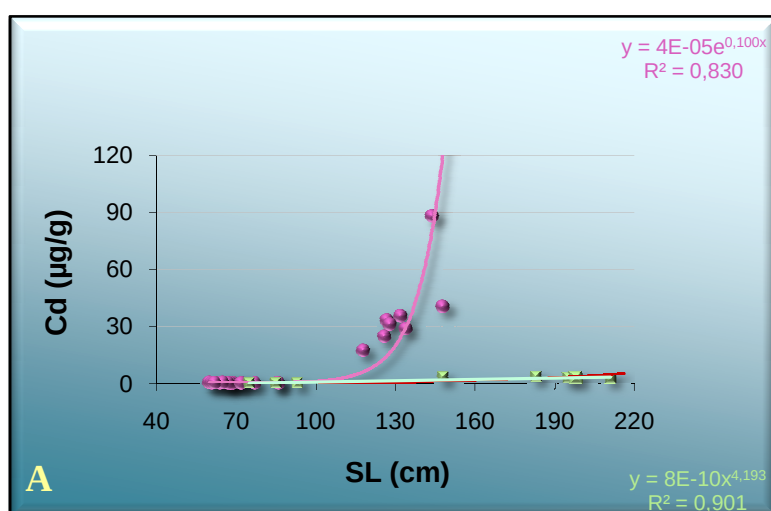


Fig. 10. **A**-Concentración de cadmio ($\mu\text{g/g}$) en hembras de *A. australis* y *O. flavescens* **B**-Concentración de mercurio ($\mu\text{g/g}$) en hembras y machos de *A. australis* y hembras de *O. flavescens*. El color rosa/ círculos corresponde a *A. australis* y el color verde/ cuadrados a *O. flavescens*.

5. Discusión

5.1 Aspectos del muestreo

La elección de Cabo Polonio como lugar de muestreo resultó acertada, viéndose esto reflejado en el número de muestras obtenido en relación al tiempo de muestreo.

Si bien es cierto que el muestreo se restringió a tres salidas de campo, las fechas en que se realizaron no fueron azarosas. Es entre diciembre y febrero en que se producen los nacimientos en ambas especies y las disputas entre machos por posesión de las hembras para el apareamiento (Ponce de León, 2008). Estas disputas provocan el deceso de machos que resultan gravemente heridos durante las mismas y de crías que quedan en el área de disputa y resultan aplastadas o mordidas. De acuerdo con Vaz-Ferreira y Sierra de Soriano (1962) parte de los machos desplazados, ya sea de forma individual o grupal, atacan los harenes intentando la captura y el rapto de hembras para aparearse (Ponce de León y Pin, 2006). Este hecho puede tener como resultado lesiones de importancia que derivan en la muerte de estas hembras. Por otra parte se ha visto que machos que no pudieron copular ingresan a los harenes y raptan cachorros, trasladándolos fuera del área reproductiva, sometiénolos a torturas, mordidas, lanzamientos al aire e inmersiones forzadas, provocando su muerte (Ponce de León com. pers.). Miller y colaboradores (1996) registraron comportamientos sexuales interespecíficos violentos y agresivos en las islas próximas a Cabo Polonio e Isla de Lobos, en donde machos de *O. flavescens* raptan hembras adultas de *A. australis* forzándolas a la copula, finalizando, a veces, con la muerte de las mismas (Ponce de León y Pin, 2006). Estas evidencias condujeron a que fuera en este periodo en el que se realizaran los muestreos del presente trabajo dado que se esperaba encontrar mayor cantidad de animales muertos en la costa, en comparación con otros periodos del año.

Lamentablemente la reducida cantidad de muestras obtenidas de *O. flavescens* impidió llevar a cabo alguno de los objetivos planteados en el presente trabajo. Cabe destacar que la población de *A. australis* es del orden

de los 340.000- 360.000 ejemplares mientras que la de *O. flavescens* es de 12.000 ejemplares, según censos realizados por la DINARA (Ponce de León, 2008). Por lo que la probabilidad de encontrar mayor cantidad de ejemplares de *A. australis* era superior a la de encontrar mayor cantidad de *O. flavescens*. No obstante el muestreo abarcó todo el rango de tallas de *A. australis*, ambos sexos, así como también diferentes grados de descomposición de la muestra, cubriendo todo el abanico de posibilidades.

5.2 Aspectos metodológicos

Si bien la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) es un método clásico de fácil aprendizaje y fiable en la cuantificación de metales, presentó algunas dificultades en muestras con un alto contenido lipídico, como lo es el hígado de pinnípedos. Esto se vio reflejado en las experiencias de fortificación en donde la matriz interfirió provocando la retención parcial del elemento analizado. Fue necesario realizar una corrección de los datos obtenidos de acuerdo a su IR con el fin de no sub estimar los mismos. Los valores recuperados se encuentran por debajo de los de otros investigadores en trabajos con mamíferos marinos (Gil *et al.*, 2006) y peces (Viana *et al.*, 2005) que obtuvieron porcentajes de recuperación del 100 y 80% respectivamente.

Es importante destacar que el mercurio es un elemento de muy fácil volatilización, lo que representa un problema a la hora de su manipulación en muestras biológicas. No ocurrió lo mismo con el cadmio que presentó una muy buena recuperación del orden del 100%, valor superior a los obtenidos por Gil y colaboradores (2006) para peces, invertebrados y mamíferos marinos, entre ellos *O. flavescens*. Cabe señalar que a diferencia del mercurio en donde la matriz interfiere en los resultados, en el cadmio la matriz desaparece al incinerarse la muestra, no interfiriendo en los resultados obtenidos. Es importante destacar que si bien el método de fortificación de muestras para la obtención de los índices de recuperación es algo engorroso, permite realizar correcciones que aseguren la veracidad de los resultados obtenidos

5.3 Concentración de metales en función de la talla

El presente trabajo muestra los mismos patrones encontrados por otros investigadores donde la concentración de mercurio y cadmio aumentan conforme aumenta la talla del organismo para ambas especies (Peña *et al.*, 1988; Gerpe, 1990; Gerpe *et al.*, 1990 y Marcovecchio *et al.*, 1991). Los resultados del presente trabajo evidenciarían un proceso de bioacumulación donde a mayor talla y por lo tanto la edad del organismo, se presenta mayor concentración de metales en los órganos diana de los organismos estudiados.

Muchos trabajos utilizan la edad en lugar de la talla para ver si esta relación se mantiene. Esto se debe a que el proceso de bioacumulación de metales se visualiza mejor utilizando la edad en lugar de la talla. Los mamíferos marinos a medida que aumentan sus dimensiones lineales incrementan su masa corporal. La variación del peso y de los órganos y tejidos depende de cada especie. El ritmo de crecimiento no se mantiene constante durante toda la vida, sino que disminuye de forma regular desde el principio al final del ciclo de crecimiento, siendo este un modelo asintótico. Si se grafica la concentración de metales en función de la talla, la relación que se ve es logarítmica, mientras que si en lugar de la talla incluimos la edad la curva se va a atenuar, convirtiéndose en una relación exponencial. Esto se debe a que si bien el ritmo de crecimiento del animal es menor cuanto mayor es la edad estos siguen acumulando metales (Gerpe *et al.*, 2002). Lamentablemente para el presente trabajo no se contaba con datos de edad de los organismos muestreados ni se encontraron trabajos en donde se pueda ver la relación talla-edad.

Existen numerosos trabajos que demuestran la correlación positiva entre la concentración de ambos metales en el hígado y riñones de mamíferos marinos respectivamente y la talla entre los que se destacan Wagemann *et al.*, (1996), Sanpera *et al.* (1996), Beck *et al.* (1997), Monteiro-Neto *et al.* (2003), Ikemoto *et al.* (2004), Haynes *et al.* (2005), Seixas *et al.* (2007), entre otros. Específicamente para pinnípedos los trabajos son escasos. Peña y colaboradores (1988) reportan valores de mercurio en hígado de 7 muestras de *O. flavescens* con un valor medio de 46.5 µg de Hg/g de hígado en base

húmeda, mientras que Gerpe y Rodríguez (2006) encontraron en la misma especie una concentración media en hígado de 33.9 µg de Hg/g y de 2.16 µg de Cd/g de riñón en base húmeda. Gil y colaboradores (2006) reportaron para un ejemplar de *O. flavescens* una concentración de mercurio de 3 µg/g de hígado y de cadmio de 1.19 µg/g de riñón en base húmeda. Mientras que Fossi y colaboradores (1997) reportan para una muestra de la misma especie una concentración media de mercurio de 870 µg/g de hígado en base seca. En el presente estudio se registraron niveles de mercurio para *O. flavescens* mayores a los reportados para la región, con una concentración media de 63.1 µg/g de hígado en base húmeda. La concentración media de cadmio fue de 1.89 µg/g de riñón en base húmeda, estando por debajo de los valores reportados para la región. Para *A. australis*, Gerpe y colaboradores (1990) reportan una concentración media de mercurio de 33.7 µg/g de hígado y de cadmio de 0.4 µg/g de riñón en base húmeda. Al compararlos con los resultados obtenidos en el presente estudio se observa que la concentración media de mercurio es menor (16.9 µg/g) mientras que la concentración de cadmio es sustancialmente superior (11.9 µg/g) a la encontrada por Gerpe y colaboradores (1990).

Sin embargo tanto para el caso de *O. flavescens* como para *A. australis*, comparar los datos reportados para ambas especies en la región con los datos obtenidos en el presente trabajo se debe realizar con extrema precaución debido a las diferencias en la metodología empleada como en el número de muestras. Peña y colaboradores (1988) y Gerpe y Rodríguez (2006) reportan una concentración promedio de mercurio, no incluyendo datos de talla ni clase de edad en el primer caso, o incluyendo en el promedio a individuos de diferente clase de edad, como ocurre en el segundo caso. En el trabajo de Gil y colaboradores (2006) aunque la técnica para la determinación de metales es a grandes rasgos muy similar a la utilizada en el presente trabajo, reportan datos de edad y no de talla, hecho que impide comparar los resultados. En el trabajo de Fossi y colaboradores (1997) la concentración reportada es sustancialmente superior a la reportada en el presente trabajo, pero el n muestral corresponde a un organismo, por lo que la comparación, a pesar de utilizar el mismo método de ensayo, no es del todo recomendable.

Por todo lo anteriormente expuesto resulta dificultosa la comparación con datos reportados de ambas especies para la región.

Un aspecto importante es que se evidenció un aumento abrupto en la concentración de ambos metales en animales cercanos a 100 cm de su talla (SL), lo que se corresponde con la edad de destete de la especie. El periodo de lactancia en ambas especies es relativamente largo en comparación con el de otros mamíferos marinos (King, 1983 en Ponce de León y Pin, 2006). Dado que las crías se alimentan únicamente de leche por un período que varía entre los ocho a doce meses, es posible asumir que los niveles encontrados (1.21 μg de Hg/g de hígado y 0.08 μg de Cd/ g de riñón) en aquellos individuos de tallas cercanas a los 100 cm son producto de la transferencia vía placenta o de la leche materna. Niveles superiores corresponderían a la influencia de la dieta en la especie. Sería de gran utilidad conocer los niveles basales de los metales pesados en la región para poder estimar la acumulación de los mismos, producto de la alimentación. Gerpe y colaboradores (2009) analizando muestras de hígado y riñón de crías lactantes de *A. australis* de las costas uruguayas encontraron niveles máximos de mercurio de 0.60 μg de Hg/g de hígado y de cadmio de 0.17 μg de Cd/ g de riñón. En el presente trabajo se reportan concentraciones de *A. australis* lactantes notoriamente superiores a las encontradas por Gerpe y colaboradores (2009), con una concentración máxima de mercurio de 1.81 μg de Hg/g de hígado y de cadmio de 0.34 μg de Cd/ g de riñón, siendo un aporte al conocimiento de esta especie.

5.4 Concentración de metales en función del estado de descomposición de la muestra

El estado de conservación en el que encontremos un animal muerto depende de factores externos ambientales, de animales carroñeros o del tiempo que lleva el animal muerto, entre otros. El hecho de trabajar con animales muertos presenta tanto ventajas como desventajas. Como desventajas se pueden destacar la dependencia con las condiciones del ambiente para la conservación de las muestras así como de las corrientes que arrastren a los animales muertos a la costa, lo que hace impredecible la cantidad de muestras que se puedan llegar a encontrar. Por otro lado una gran

ventaja es el hecho de que no se mata al animal como ocurre en determinados estudios en donde se adjudican fines científicos para argumentar tal hecho. El trabajar con animales muertos no representa un método invasivo como lo es el análisis de metales en plasma u orina en donde se debe capturar y anestesiarse al animal para obtener la muestra, lo que genera cierto estrés en el animal.

Son escasos los trabajos que incluyen el estado de descomposición del animal en el momento del muestreo. Por lo que si se va a trabajar con animales muertos es de suma importancia conocer si el estado en que lo encontremos es un factor que va a afectar el resultado obtenido. Haynes y colaboradores (2005), trabajaron con muestras de hígado y tejido graso del manatí (*Dugong dugon*) y encontraron evidencia que en metales pesados (excepto plomo) y compuestos organoclorados, el estado de descomposición del animal no afecta la concentración de los elementos analizados. A su vez Foglia (2008) encontró que el estado de la muestra no afecta la concentración de mercurio y cadmio para el delfín franciscano (*Pontoporia blainville*) en la costa uruguaya.

Para el presente trabajo no se pudo incluir a ambas especies por la cantidad de muestra obtenida de *O. flavescens*, insuficiente para el análisis estadístico, por lo que solo se trabajó con *A. australis*. Si bien no se encontraron diferencias significativas entre los tres estados de descomposición, el estado de descomposición avanzada (estado 3) fue el que se apartó más del resto y si bien estadísticamente esto no se pudo demostrar, se observó una tendencia a que si aumentamos el número de muestras el estado de descomposición podría afectar la concentración de metales analizados.

Basándonos en las pruebas estadísticas, el hecho de que el estado de descomposición de una muestra no afecte la concentración de metales permite entonces no descartar animales que a simple vista no presenten las condiciones ideales para ser considerados dentro de la muestra, permitiendo aumentar el n muestral.

5.5 Concentración de metales en función del sexo

Con respecto al segundo objetivo de determinar si existían diferencias intraespecíficas en la concentración de metales según el sexo del animal para ambas especies, el estudio se redujo a *A. australis* por no contar con un

número de muestras significativo de *O. flavescens*. La hipótesis planteada fue refutada dado que si bien no se encontraron diferencias significativas por sexo para el mercurio si se encontraron para el cadmio.

Otros trabajos con mamíferos marinos como los de O'Shea (1999), Sanpera *et al.* (1996), Monteiro-Neto *et al.* (2003), Haynes *et al.* (2005), Beckmen *et al.* (2002) y Seixas *et al.* (2007), entre otros, no encontraron diferencias por sexo en la concentración de dichos metales. Sin embargo Francis y Bennett (1993) encontraron diferencias por sexos en la concentración de mercurio en hígado de nutria marina (Monteiro-Neto *et al.*, 2003)

Si asumimos que la dieta desempeña un papel primordial en la concentración de ambos metales en las dos especies, una dieta diferencial por sexo podría explicar las diferencias encontradas en la concentración de cadmio en *A. australis*. Lamentablemente para *A. australis* no existen estudios tróficos que consideren las diferencias de la alimentación entre sexos.

Koen Alonso y colaboradores (2000) estudiando la dieta, por medio del contenido estomacal, de *O. flavescens* en la Patagonia encontraron diferencias por sexo, llegando a la conclusión que las hembras se alimentan principalmente de especies bentónicas y los machos de especies demersales pelágicas, siendo el ítem presa más abundante en la dieta de las hembras el pulpo rojo *Enteroctopus megalocyathus* y el de los machos la merluza *Merluccius hubbsi*. Las hembras están limitadas a conseguir su alimento en zonas próximas al lugar en donde se encuentran sus crías, por lo que la variedad de ítem presa puede verse limitada a dicha situación. York y colaboradores (1998) demostraron que las hembras de *A. australis* se alimentan próximas a la zona de cría, entre los 40 a 100 km de las costas de la Isla de Lobos. Del mismo modo Franco (2005) estudiando la relación madre-cría de *A. australis* en Isla de Lobos observó que las hembras se alimentan próximas a la costa. Lamentablemente no se conoce con exactitud el área de alimentación de ambas especies de pinnípedos en las costas uruguayas, lo que dificulta aún más determinar diferencias en las preferencias alimenticias dentro de la especie.

Watanabe y colaboradores (1996) señalan diferencias en las concentraciones de Cd en función del sexo, siendo mayores en las hembras que en los machos de *Phoca sibirica*. Estos resultados son similares a los

encontrados en el presente estudio, donde la concentración media de Cd en hembras de *A. australis* fue cuatro veces mayor a la determinada en machos. Sin embargo diferentes trabajos muestran que la concentración de metales pesados en machos adultos de algunas especies de mamíferos marinos puede ser mayor que en hembras de la misma edad, por una posible transferencia del metal a las crías (Monteiro-Neto *et al.*, 2003). Reijnders (1988) propuso una transferencia de metales de las hembras a las crías mayoritariamente vía placenta y en menor medida por la leche (Monteiro-Neto *et al.*, 2003). En el mismo año Wagemann y colaboradores (1988) reportaron niveles altos de mercurio en crías de *Phoca groenlandica* por una posible transferencia transplacentaria, descartando la transferencia transplacentaria del cadmio. Para este último caso Wood y Van Vlet (1996) no encontraron evidencia de transferencia de cadmio vía placenta o leche de hembras a sus crías en muestras del delfín *Tursiops truncatus*. Sin embargo Frodello y colaboradores (2002) encontraron niveles detectables de mercurio y cadmio en leche y glándula mamaria de *T. truncatus*, aunque menores a los niveles encontrados para los órganos diana de ambos metales.

Aún no se han encontrado resultados que sustenten la existencia o no de transferencia de estos metales desde la madre hacia la cría, si esto depende de la especie, o si dicha transferencia puede causar algún daño en los lactantes.

Aunque en el presente trabajo se encontró que la concentración de cadmio es mayor en hembras que en machos de *A. australis* se encontraron niveles detectables de cadmio y mercurio en individuos lactantes (tallas menores a 100 cm) lo que sugiere transferencia a las crías.

5.6 Diferencias en la concentración de metales entre especies

Aunque existe un número elevado de factores fisiológicos y ambientales que pueden influir en la acumulación de elementos traza, las preferencias alimenticias y la complejidad de las cadenas tróficas marinas son los factores responsables del proceso de bioacumulación en mamíferos marinos (Bustamante *et al.*, 1998).

En el presente trabajo se plantea como hipótesis que la dieta de *O. flavescens* (basada principalmente en peces, acumuladores de mercurio) y de *A. australis* (calamares, acumuladores de cadmio), la concentración de cada metal se correspondería con las preferencias tróficas de cada especie. Sin embargo los resultados obtenidos al estudiar hembras de ambas especies nos muestran que si bien para el cadmio esto se cumple, para el mercurio esto no es cierto.

Lamentablemente los estudios de hábitos tróficos para ambas especies en las costas uruguayas, en fecas y contenido estomacal, no son del todo completos. El trabajo de Naya y colaboradores (2002) en fecas de *A. australis* en Isla de Lobos abarcan la zona de interacción entre *A. australis* y *O. flavescens*, por lo que podría haber una cierta confusión a la hora de adjudicar un ítem presa en la dieta de alguna de las especies estudiadas. A su vez el tiempo de recolección de las muestras fue irregular, quedando la variación interanual en la dieta restringida a dos meses, no pudiéndose estudiar tampoco la variación interestacional de la dieta. En el trabajo realizado por Pin y colaboradores (1996) se estudio la dieta a través de fecas y contenido estomacal de animales muertos de *A. australis*. Estudiar la dieta a través del contenido estomacal presenta la desventaja que van a aparecer aquellos elementos capaces de no ser digeridos como otolitos, escamas, dientes, huesos, picos de cefalópodos y exoesqueletos de invertebrados y que, en la mayoría de los casos, la identificación de la especie a la cual pertenecen es dificultosa. El tiempo entre que el animal muere y es encontrado puede dificultar aun mas dicha identificación dado que los ácidos presentes en el estomago siguen degradando el contenido aun después de muerto el organismo. Aunque si bien los estudios de los hábitos tróficos de ambas especies no son del todo completos, los resultados son comparables con trabajos en la región en donde muestran a *O. flavescens* consumidor preferencial de peces teleósteos, seguido de peces cartilaginosos y por ultimo de cefalópodos, mientras que *A. australis* consume preferentemente peces teleósteos y cefalópodos (Suárez *et al.*, 2005).

En Uruguay los ítem presa de *O. flavescens* son brótola (*Urophycis brasiliensis*), pescadilla (*Cynoscion guatucupa*), corvina (*Micropogonia furnieri*), cazón (*Mustelus schmitti*) y distintas especies de crustáceos como calamar (*Illex argentinus*) (Ximenez y Langguth, 2002). Por otra parte *A. australis*

consume preferentemente cefalópodos, como por ejemplo *Ilex argentinus* (calamar) y *Loligo sanpaulensis* (calamarete) y peces fundamentalmente: pescadilla (*Cynoscion guatucupa*), pez sable (*Trichirius lepturus*), anchoita (*Engraulis anchoita*) y anchoita marina (*Anchoa mitchilli*) (Naya *et al.*, 2002; Ponce de León *et al.*, 1988).

Peces como corvina, brótola, pescadilla de red y anchoa, entre otros habitan el frente salino del Río de la Plata, utilizándolo como zona de reproducción o de alimentación (Nion, 1998 en Wells y Daborn, 1998). Dado el desarrollo industrial en torno al Río de la Plata, existen importantes descargas de metales pesados, amonio, grasas y aceites al mismo. La concentración de estos contaminantes en la columna de agua varía con el tiempo, ya que sus niveles están directamente asociados a las descargas y muchas veces están muy cercanos a los límites de detección de las técnicas analíticas (Janiot *et al.*, 1997). Si bien las descargas son costeras, los contaminantes pueden afectar la calidad del agua entre los 500 y 2000 metros de la costa, por lo que los peces que allí se alimentan reciben a través de sus presas los contaminantes que se descargan y éstos son transferidos vía trófica a sus depredadores, entre los que se encuentra *O. flavescens* y *A. australis*.

En Uruguay, Viana y colaboradores (2005) encontraron niveles de mercurio similares a la región y evidenciaron un proceso de bioacumulación de mercurio en la corvina y pescadilla de calada, ítems presa de *O. flavescens*. Furness y Rainbow (1996) demostraron que aquellas especies que consumen peces exhiben elevadas concentraciones de mercurio, y que aquellas que se alimentan de cefalópodos y crustáceos decápodos presentan elevadas concentraciones de cadmio dado que los mismos son grandes acumuladores de dicho metal. Así, contaminantes como mercurio y cadmio se transfieren a través de la cadena trófica hasta llegar a los depredadores superiores como los pinnípedos.

Los niveles de mercurio y cadmio en peces de la costa uruguaya, tanto en hígado como en músculo, son menores a los reportados para Argentina. En el trabajo de Mattos y Torrejón (1976) se determinó mercurio en músculo de corvina (*Micropogonias furnieri*), pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) y gatuso (*Mustelus schmitti*), encontrándose niveles de 0.03-0.15, 0.01-0.07 y 0.09-0.32 µg de Hg/g en base húmeda respectivamente. A su vez Viana (2001) demostró

que los hábitos tróficos de las especies estudiadas influyen en la concentración de metales que presenten, encontrando mayor cantidad de mercurio en aquellas especies con hábitos carnívoros bentónicos como *M. furnieri*, *C. guatucupa* y *M. schmitti*, ítems presa de *O. flavescens*.

Según la dieta de *O. flavescens* (basada principalmente en peces teleósteos) se debería esperar que esta especie presente una mayor concentración de mercurio en comparación con *A. australis*. Sin embargo y aunque la mayor concentración de mercurio registrada fue en un ejemplar de *O. flavescens*, (199.56 µg/g) no parece diferir de la observada en *A. australis*. Quizás sea necesaria una revisión exhaustiva de la dieta de ambas especies, incluyendo la posible variación interanual e interestacional. Quizás *O. flavescens* consuma peces con bajas concentraciones de mercurio, lejos de las zonas de vertido de contaminantes, o quizás el proceso de bioacumulación del mercurio sea diferente al del cadmio y la biomagnificación en la trama trófica sea más compleja de detectar.

A diferencia de lo observado para el mercurio, la variación interespecífica en la concentración de cadmio fue significativa. La marcada preferencia de *A. australis* por los calamares, conocidos por su capacidad de bioacumular este metal, se vio reflejada en el contenido de cadmio en la especie (Caurant y Amiard-Triquet, 1995; Bustamante *et al.*, 1998). Sin embargo Dorneles y colaboradores (2007) vieron que no todos los cefalópodos podrían considerarse vectores en la transferencia de cadmio a los mamíferos marinos del Atlántico Sudoccidental. En dicho estudio muestran que los cefalópodos de la familia Ommaestrephidae, por ejemplo *Ilex argentinus*, presentan una capacidad mayor de bioacumular cadmio que los de la familia Loliginidae, por ejemplo *Loligo sanpaulensis*, dado que estos últimos no presentan una estructura en la glándula digestiva necesaria para la efectiva absorción de cadmio. Ambas familias son parte de la dieta de *A. australis* y *O. flavescens*, siendo *I. argentinus* uno de los ítem presa más abundante en la dieta de *A. australis*, presentándose en menor medida en la dieta de *O. flavescens*, lo que aportaría a las diferencias de Cd encontrado en ambas especies.

5.7 Consideraciones finales

La zona en que se llevó a cabo el estudio ingresó a mediados del presente año en el Sistema Nacional de Áreas Protegidas como Parque Nacional, a través del decreto del MVOTMA 337/009. Esta categoría hace referencia a un área protegida destinada a fines turísticos, recreativos, científicos y culturales, no pudiendo ser sometida a explotación salvo la necesaria para preservar el destino de interés general que motivo su creación según la Ley forestal 15939/987 (DINAMA, 2009).

La situación del lobo marino común y el lobo fino austral tanto a nivel regional como nacional está considerada fuera de peligro (Sielfeld, 1999). De las dos especies estudiadas solo *A. australis* se encuentra dentro del apéndice II del CITES, catalogada en la lista roja de 1996 como una especie de bajo riesgo. Sin embargo, *O. flavescens* presenta un descenso en Uruguay a una tasa de 6% por año (Páez, 1996 en Suárez *et al.*, 2005). Desde 1998 a través del decreto 238/998 se prohíbe la persecución, caza, pesca y cualquier apropiación de ejemplares de pinnípedos y cetáceos que habitan las islas, costas y aguas de jurisdicción nacional así como la retención, agresión o molestia que conduzca a la muerte intencional de dichos mamíferos o destrucción, daño o contaminación de todas aquellas zonas que son las áreas naturales de reproducción, cría o asentamiento poblacional (DINAMA, 2009). Por lo que es de suma importancia conocer el estado en el que se encuentra el área así como también el de los organismos que allí habitan con el fin de hacer un uso sustentable de la misma.

Lamentablemente son escasos los trabajos que realicen un aporte a la biología de las dos especies de pinnípedos que habitan el área. A partir de los datos aportados en el presente trabajo y dado que son los primeros datos de concentración de metales en el área, sería importante profundizar en poder establecer una relación entre la concentración de metales y los hábitos tróficos, y poder establecer el origen de los mismos y poder compararlos con datos de la región.

Muchas veces resulta difícil determinar cuándo las concentraciones de metales encontradas son producto de actividades humanas puntuales o corresponden a los niveles naturales en el ambiente. Más aún si tomamos en cuenta que no

existe, hasta el momento, un estudio de los niveles basales de mercurio y cadmio para la zona de estudio ni datos completos de la dieta de ambas especies.

La bibliografía considera a los mamíferos marinos como organismos muy sensibles a los cambios en el ambiente y con características biológicas como su longevidad, su posición en las redes tróficas y su abundante tejido adiposo, que les otorgan la particularidad de ser utilizados como bioindicadores de la contaminación ambiental (Capelli *et al.*, 2000 en Seixas *et al.*, 2007).

La concentración de los metales analizados puede ser un indicador del lugar en donde se alimentan los ítem presa de ambas especies, dada su conocida migración desde zonas próximas a la costa, influenciada por la actividad humana en donde la carga de los contaminantes es mayor, hacia aguas profundas del Océano Atlántico, en donde dicha interacción es sustancialmente menor. El hecho de usar organismos indicadores del estado del ambiente requiere conocer las tolerancias ecológicas y los requerimientos de esa especie así como sus adaptaciones para resistir determinados contaminantes, información que aun no ha sido estudiada en ambas especies de pinnípedos.

Otro tema en el que diferentes autores concuerdan es en la toxicidad de los metales pesados y su influencia en el estado de salud de los organismos. Tanto el mercurio como el cadmio provocan desórdenes en el sistema circulatorio, nervioso y reproductivo, particularmente en machos, así como patologías en el sistema renal y hepático (O'Shea, 1999). Lo que parece ser un punto de discordia es el límite en el que los mecanismos de detoxificación no son suficientes y se vuelven visibles los daños en la salud provocados por acumulación de dichos metales. En el presente trabajo no se puede asegurar que los niveles encontrados se asocien con disfunciones renales o hepáticas, dado que no se realizaron estudios histológicos post mortem, ni que los decesos sean producto de las concentraciones de mercurio y cadmio presentes. Dietz y colaboradores (1998) no encontraron diferencias morfológicas visibles entre el tejido renal de focas con elevados niveles de cadmio (726 $\mu\text{g/g}$ peso húmedo) y muestras no contaminadas (Fisk *et al.*, 2005). Algunos autores como Fujise y colaboradores (1988) relacionan disfunción renal con concentraciones de cadmio en hígado mayores a 20 $\mu\text{g/g}$ peso húmedo y otros como Eisler (1987) consideran niveles superiores a 10

µg/g ph en hígado o riñón de vertebrados que indicarían posible contaminación con este metal (Gil *et al*, 2006). Marcovecchio y colaboradores (1990) indican niveles aproximados de cadmio de 400 µg/gph en hígado o riñón de especies de mamíferos marinos con dietas ricas en calamares. Law y colaboradores (1996) proponen que una concentración mayor a 30 µg/g ph de cadmio en riñón produciría disfunciones renales y una concentración mayor a 80 µg/g ph de mercurio produciría daños hepáticos en mamíferos marinos. Las concentraciones máximas encontradas en el presente estudio para mercurio (199 µg/g ps) y cadmio (88 µg/g ps) indicarían posibles disfunciones en los organismos muestreados, si tomamos en cuenta los anteriores datos reportados. Sin embargo extrapolar estos datos a las especies de pinnípedos estudiadas se debería realizar con precaución y no sería del todo correcto dado que si bien son datos generales de mamíferos marinos, los hábitos tróficos, edad, sexo, las zonas en las que viven y se reproducen, entre otros factores, influyen en la acumulación de los metales y la forma en que estos afectan su organismo. Lo que si resulta evidente es que estas especies de mamíferos marinos han desarrollado mecanismos de detoxificación eficientes que les permiten tolerar tan altas concentraciones de metales en comparación a las concentraciones presentes en el ambiente.

Si bien en Uruguay no se consume carne de mamíferos marinos como en otras partes del mundo, el hecho de trabajar con los eslabones más altos de las cadenas tróficas marinas permite determinar los posibles daños en la salud a causa del mercurio y el cadmio.

Estos son los primeros registros de metales pesados en tejidos de pinnípedos en las costas uruguayas, siendo mayor la cantidad de trabajos que reportan metales pesados en mamíferos marinos en la región. A diferencia de algunos trabajos en la región, el presente trabajo presenta un numero muestral importante. Muchos trabajos elaboran sus conclusiones en bases estadísticas débiles, con un numero muestral que se encuentra en el límite permitido para efectuar un análisis estadístico. El hecho de contar con un número grande de muestras proporciona un mayor soporte estadístico a la hora de analizar los resultados y brinda confianza en las técnicas utilizadas.

Si bien es cierto que parte de los objetivos planteados no se pudieron demostrar, o por falta de datos específicos de la especie como es edad o peso o por no contar con datos comparables a los trabajos reportados en la región, este estudio significa un aporte al conocimiento de ambas especies, quedando el camino abierto para continuar trabajando en el tema.

6. Conclusiones y puntos a trabajar

- ✧ Se evidencio un proceso de bioacumulación tanto para *O. flavescens* como para *A. australis* en función de la talla. Restaría determinar si esta relación es igual utilizando la edad en lugar de la talla.
- ✧ No se puede afirmar que el estado de descomposición de la muestra en el momento del muestreo no afecta las concentraciones de ambos metales debido al bajo n muestral de la condición 3. Un estudio en ambas especies en donde se aumente el n muestral de la condición 3 y se incluya la condición 4 sería importante realizar.
- ✧ El sexo no influye en la concentración de mercurio pero si en la de cadmio, siendo mayor la concentración del metal en hembras que en machos de *A. australis*.
- ✧ Se evidencio una transferencia de metales de madre a cría en ambas especies cuya vía puede ser transplacentaria o por lactancia.
- ✧ Entre ambas especies de pinnípedos no se detectaron diferencias significativas en la concentración de mercurio pero si en la concentración de cadmio. Por lo que sería prioritario realizar un estudio trófico de ambas especies.
- ✧ La comparación de los valores reportados en el presente trabajo con los reportados para la región resulto dificultosa debido a diferencias en las técnicas de determinación de metales utilizadas, falta de parámetros propios de la especie como ser talla o edad, utilización de datos promedio mezclando diferentes grupos de edad para expresar la concentración de metales o número de muestras reportadas. Sin embargo los valores reportados son similares e

incluso, en algunos casos, superiores a los reportados para la región.

- Debido a la falta de una fuente puntual de mercurio y cadmio en el área, la presencia de ambos metales en los pinnípedos sería producto de la acumulación trófica y estaría reflejando el estado del ambiente en el que se alimentan ellos o sus ítem presa.

7. *Perspectivas*

Estudios futuros son necesarios para determinar el área exacta de alimentación de ambas especies de pinnípedos así como sus ítems presas, incorporando las variables sexo y tiempo, contemplando la posible preferencia alimenticia diferencial entre machos y hembras, que determine una acumulación diferencial de ambos metales.

Por otro lado un estudio de los niveles de mercurio y cadmio en dos puntos con características diferentes como lo son la costa Atlántica y el Río de La Plata, en donde se integre un estudio en sedimento, con el fin de conocer los niveles ambientales y la biodisponibilidad de ambos metales, ambas especies de pinnípedos y los ítem presa de cada especie.

Aunque la bibliografía resalta el estatus de los mamíferos marinos en general como buenos indicadores ambientales sería interesante incluir dentro del estudio un organismo bentónico, de poca movilidad que represente la concentración de metales en un determinado lugar y que sea ítem presa de los peces y crustáceos consumidos por los pinnípedos

De esta manera se podrá conocer la transferencia de metales a través de la trama trófica, incorporando el concepto de biomagnificación.

8. Bibliografía

Albert LA (1997). Contaminación ambiental. Origen, clases, fuentes y efectos. Introducción a la Toxicología Ambiental. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud-OPS-Gobierno del estado de México.

Alloway BJ y Ayres DC (1993). Chemical Principles of Environmental Pollution. Chapman y Hall, New York., EEUU, 291 pp.

Andre, J. M., A. Boudou, and F. Ribeyre (1991). Mercury accumulation in Delphinidae. Wat. Air Soil Pollut. 56:187-201.

AOAC (1995). Official methods of analysis. AOAC International, EEUU.

Arballo E. y Cravino J (1999). Aves del Uruguay. Manual ornitológico. Editorial hemisferio Sur. Montevideo.

Arima S y Nagakura K (1979). Mercury and selenium content of Odontoceti. Bulletin of the Japanese Society of the Scientific Fisheries 45: 623-629.

Ayres M, Ayres MJr, Lima D y Santos A (2005). Bioestat 4.0.

Bacher GJ (1985). Mercury concentrations in the Australian fur seal *Arctocephalus pusillus* from SE. Australian Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 35: 490-495.

Bard SM (1999). Global Transport of Anthropogenic Contaminants and the Consequences for the Artic Marine Ecosystem. Marine Pollution Bulletin 38(5): 356-379.

Beck KM, Fair P, Mcfee W y Wolf D (1997). Heavy metals in livers of Bottlenose Dolphins stranded along the South Carolina Coast. Marine Pollution Bulletin 34: 734-739.

Beckmen KB, Duffy LK, Zhang X y Pitcher KW (2002). Mercury concentrations in the fur of Steller sea lions and northern fur seals from Alaska. Marine Pollution Bulletin 44: 1130-1135.

Beckvar N, Field J, Salazar S y Hoff R (1996). Contaminants in Aquatic Habitats at Hazardous Waste Sites: Mercury. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 100. Seattle: Hazardous Materials Response and Assessment Division, National Oceanic and Atmospheric Administration. 74 pp.

Bonner WN (1981). Southern fur seals. En Ridgway SH y Harrison R, eds. The walrus, sea lion, fur seals and sea otter. Academic Press 161:208. London, UK.

Bryan GW (1971). The effects of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine organisms. Proceedings-Royal Society of London 177(B): 389-410.

Bryan GW (1984). Pollution due to heavy metals and their compounds, in Marine Ecology (5). Kinne O, Ed. John Wiley and Sons, New York.

Bustamante P, Caurant F, Fowler SW y Miramand P (1998). Cephalopods as vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. The Science of the Total Environment 220: 71-80.

Calliari D, Defeo O y Cervetto G (2003). La Vida Marina de Uruguay: Revisión crítica y prioridades para investigaciones futuras. Gayana (Concepc.) 67(2): 341-370. ISSN 0717-6538.

Capella R, Drava G, De Pellegrini R, Minganti V y Poggi R (2000). Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coast (Italy). Adv. Environ. Res. 4: 31-43.

Capozzo HL y Rosas CW (1991). Leon marino sudamericano *Otaria flavescens* (Shaw, 1800). Pp 166-170. En Capozzo HL y Junin M (editores). Estado de conservación de los mamíferos marinos del Atlántico sudoccidental. Informes y estudios del Programa de Mares Regionales del PNUMA N1.138-250 pp.

Caurant F y Amiard-Triquet C (1995). Cadmium contamination in pilot whales *Globicephala melas*: source and potential hazard to the species. Marine Pollution Bulletin 30: 207-210.

Clark RB, Frid C y Atrill M (1997). Marine Pollution. Clarendon Press, Oxford, 161 pp.

Cracco M, Garcia L, Gonzalez E, Rodríguez L y Quintillan A (2005). Borradores Proyecto Fortalecimiento de las Capacidades para la Implementación del Sistema Nacional de Áreas Protegidas de Uruguay (DINAMA/PNUD/GEF). URU/05/001.

Dans SL, Crespo EA, Pedraza SN y Koen-Alonso M (2004). Recovery of the South American sea lion (*Otaria flavescens*) population in the northern Patagonia. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 61: 1681-1690.

Decreto 315/994 del 05/07/94, Reglamento Bromatológico Nacional. <http://faolex.fao.org/docs/pdf/uru3268.pdf>

Decreto 337/009. <http://www.snap.gub.uy/dmdocuments/DecretoPolonio.PDF>

Dietz R, Pacyna J y Thomas DJ (1998). Heavy metals. AMAP assessment report: arctic pollution issues. Oslo, Norway: Arctic Monitoring and Assessment Program. 373-524 pp.

DINAMA (2009). Propuesta de ingreso del área protegida marino-costera de Cabo Polonio al Sistema Nacional de Áreas Protegidas. www.mvotma.gub.uy/dinama

Dorneles PR, Lailson-Brito J, Aguiar dos Santos R, Silva da Costa PA, Malm O, Freitas Azevedo A y Machado Torres JP (2007). Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off central south Brazil Bight. *Environmental Pollution* 148: 352-359.

Eisler R (1987). Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biology Report 85(1.10). Washington, D.C.: U.S. Department of the Interior. 90 pp.

EPA (1994). Recommended guidelines for sampling marine mammal tissue for chemical analyses in Puget Sound. U.S. Environmental Protection Agency. Puget Sound Water Quality Authority, Washington, EEUU, 71 pp

Fisk AT, De Wit CA, Wayland M, Kuzyk ZZ, Burgués N, Letcher R, Braune B, Norstrom R, Polischuk Blue S, Sandau C, Lie E, Larsen HJS, Skaare JU y Muir DCG (2005). An assessment of the toxicological significance of anthropogenic contaminants in Canada arctic wildlife. *Science of the Total Environment* (art. In press).

Foglia M (2008). Niveles de metales pesados en *Pontoporia blainvillei* de la costa atlántica uruguaya. Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de la Republica. Montevideo, Uruguay.

Fossi MC, Marsili L, Junin M, Castello H, Lorenzani JA, Casini S, Savelli C y Leonzio C (1997). Use of nondestructive biomarkers and residue analysis to assess the health status of endangered species of pinnipeds in the South-West Atlantic. *Marine Pollution Bulletin* 34 (3): 157-162.

Francis DR y Bennet KA (1994). Addition data on mercury accumulation in Northern Michigan River Otters. *J. Fresh. Ecol.* 9(1):1-5.

Franco V (2005). Comportamiento maternal y aspectos reproductivos de *Arctocephalus australis* en Isla de Lobos, Uruguay. Tesis de Licenciatura. Universidad de la Republica. Uruguay. 74 p.

Furness RW y Rainbow PS (1996). Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press. Inc; Florida, EEUU.

Gaskin DE, Smith GJD, Arnold PW, Lousy MV, Frank R, Holdrinet M y McWade JW (1974). Mercury, DDT dieldrin and PCB in two species of Odontoceti (Cetacea) from St. Lucia, Lesser Antillas. Journal of Fishery Research-.Board of Canada., 31:1235-1239.

Gerpe M S (1990). Distribución de metales traza, mercurio total, cadmio, cobre y zinc, en el lobo marino de dos pelos sudamericano *Arctocephalus australis* (Zimmerman, 1783). Tesis de grado, Universidad de Mar del Plata, Argentina, 71pp.

Gerpe MS (1996). Distribución y dinámica de metales pesados en mamíferos marinos. Tesis Doctoral. Universidad de Mar del Plata, Argentina, 342 pp.

Gerpe MS, Moreno V, Perez A, Bastida R, Rodriguez D y Marcovecchio J (1990). Trace metals in the South American fur seal, *Arctocephalus australis* (Zimmerman, 1783). En: J. Barceló (Ed.), Environmental Contamination, CEP Consultants Ltd., Edinburgo, Reino Unido, 591-594.

Gerpe M, Ponce de León A, Bastida R, Moreno VJ y Rodríguez D (2009). Sharp accumulation of heavy metals alter weaning in the South American fur seal *Arctocephalus australis*. XIII Reunión de Trabajo de Especialistas en Mamíferos Acuáticos 2008. Montevideo, Uruguay. Resúmenes.

Gerpe MS, Rodríguez DH, Moreno VJ, Bastida RO y de Moreno JA (2002). Accumulation on the heavy metals in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires province, Argentina. Latin American Journal of the Aquatic Mammals 1: 95-106.

Gerpe M y Rodríguez D (2006). Heavy metal distribution in southern sea lions (*Otaria flaveccens*) from Argentina. Sea lions of the world. Alaska Sea Grant College Program 06-01.

Gil MN, Torres A, Harvey M y Esteves JL (2006). Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia argentina continental. Revista de Biología Marina y Oceanografía 41(2): 167-176.

Goldblatt CJ y Anthony RG (1983). Heavy Metals in Northern Fur Seals (*Callorhinus ursinus*) from the Pribilof Islands, Alaska. Journal of Environmental Quality 12: 478-482.

Gray JS (2002). Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. Marine Pollution Bulletin 45: 46-52.

Hargrave BT, Phillips GA, Vass WP, Bruecker P, Welch HE, y Siferd TD (2000). Seasonality in bioaccumulation of organochlorines in lower trophic level Arctic marine biota. Environmental Science and Technology 34(6): 980-987.

Hatch WR y Ott W (1968). Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. Analytical Chemistry 40: 2085-2087.

Haynes D, Carter S, Gaus C, Muller J y Dennison W (2005). Organochlorine and heavy metal concentration in blubber and liver tissue collected from Queensland (Australis) dugong (*Dugong dugon*). Marine Pollution Bulletin 51: 361-369.

Hernández F, Serrano R, Roig-Navarro AF, Martínez-Bravo y López FJ (2000). Persistent organochlorines and organophosphorous compounds and heavy elements in common whale (*Balaenoptera physalus*) from the Western Mediterranean Sea. Marine Pollution Bulletin 40: 426-433.

Ikemoto T, Kunito T, Watanabe I, Yasunaga G, Baba N, Miyazaki N, Petrov EA y Tanabe S (2004). Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). Environmental Pollution 127: 83-97.

Janiot, L.J, Marcucci O y Gesino A (1997). Plaguicidas y bifenilos policlorados. En: Franja Costera Sur (FCS). 1997. Calidad de las Aguas de la Franja Costera Sur del Río de la Plata (San Fernando-Magdalena). Ed. Consejo Permanente para el Monitoreo de la Calidad de las Aguas de la Franja Costera Sur del Río de la Plata.

Joiris CR, Holsbeek L, Bouqueneau JM y Bossicart M (1991). Mercury contamination of the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) and other cetaceans from the North Sea and the Kattegat. Water, Air and Soil Pollution 56: 283-293

Kim JP y Fitzgerald WF (1986). Sea-air partitioning of mercury in the equatorial Pacific Ocean. Science 231:1131-1133.

King JE (1983). Seals of the world (2nd edition). British Museum (Natural History) & Cornell University Press, Ithaca. 240 pp.

Koen-Alonso M, Crespo EA, Pedraza SN, Garcia NG y Coscarella MA (2000). Food habits of the South American sea lion *Otaria flavescens*, off Patagonia, Argentina. Fisheries Bulletin 98: 250-263.

Konasevich DE, Chapman PM, Gerencher E, Vigers G y Treloar N (1982). Effects, pathways, processes and transformation of Puget Sound contaminants of concern. NOAA technical memorandum. OMPA-20. 357 pp.

Lavigne DN y Schmitz OJ (1990). Global warming and increasing population densities: a prescription for seal plagues. Marine Pollution Bulletin 21:280-284.

Law RJ, Jones BR, Baker JR, Kennedy S, Milne R y Morris RJ (1992). Trace metal in the livers of marine mammals from the Welsh coast and the Irish Sea. *Marine Pollution Bulletin* 24: 296-304.

Law RJ, Stringer RL, Allchin R y Jones BR (1996). Metals and organochlorines in sperm whales (*Physeter macrocephalus*) stranded around the North Sea during the 1994/1995 winter. *Marine Pollution Bulletin* 32: 72-77.

Lima M y Páez E (1997). Demography and population dynamics of South American fur seals. *Journal of Mammalogy* 78: 914-920.

Malcolm HM, Boyd IL, Osborn D, French MC y Freestone P (1994). Trace metals in Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*) livers from Bird Island, South Georgia. *Marine Pollution Bulletin* 28: 375-380.

Manahan SE (2000). Chemical analysis of water and wastewater. *Environmental Chemistry*. Boca Raton: CRC Press LLC.

Marcovecchio JE, Gerpe MS, Bastida RO, Rodríguez DH y Moron SG (1994). Environmental contamination and marine mammals in coastal waters from Argentina: an overview. *The Science of the Total Environment* 154: 141-151.

Marcovecchio JE, Gerpe MS, Moreno VJ, Bastida RO y Rodríguez DH (1991). Organ and tissue distribution of total mercury in the South American fur seal, *Arctocephalus australis*. En: JG Farmer (Ed.). *Heavy Metals in the Environment*, CEP Consultants Ltd., Edinburgo, Reino Unido, 378-381.

Marcovecchio JE, Moreno VJ, Bastida RO, Gerpe MS y Rodríguez DH (1990). Tissue Distribution of Heavy Metals in Small Cetaceans from the Southwestern Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin* 21: 299-304.

Mattos S y Torrejón E (1976). Contenido de mercurio en las especies marinas más importantes del Uruguay. Laboratorio Tecnológico del Uruguay. Monografías tecnológicas, serie Pesca (II): 8 pp.

Méndez E, Giudice H, Pereira A, Inocente G y Medina D (2001). Total mercury content-fish weight relationship in swordfish (*Xiphias gladius*) caught in the Southwest Atlantic Ocean. Journal of Food Composition Analysis 14: 453-460.

Miller EH, Ponce de Leon A y De Long RL (1996). Violent interspecific sexual behavior by males sea lions (Otariidae): evolutionary and phylogenetic implications. Marine Mammal Science 12(3): 468-476.

Monteiro-Neto C, Itavo RV y De Souza Moraes LE (2003). Concentration of heavy metals in *Somalia fluvialitis* (Cetacea: Delphinidae) off the coast of Ceara, northeast Brazil. Environmental pollution 123: 319-324.

Moreno VJ, Pérez A, Bastida R, de Moreno JEA y Malaspina AM (1984). Distribución de mercurio total en los tejidos de un delfín nariz de botella (*Tursiops geophyeus*, Lahille, 1908) de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero 4: 93-102.

Muir DCG, Wagemann R, Grift NP, Norstrom RJ, Simon M y Llen J (1988). Organochlorine chemical and heavy metal contaminants in white-bencked dolphins (*Lagenorhynchus albirostris*) and pilot whales (*Globicephala melaena*) from the coast off. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 17: 613-629. Newfoundland, Canada

Naciones Unidas (2005). Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA). Primera Edición. Publicación de las Naciones Unidas. Nueva York y Ginebra.

Naya D, Arim M y Vargas R (2002). Diet of South American fur seals (*Arctocephalus australis*) in Isla de Lobos, Uruguay. Marine Mammal Science 18: 734-745.

Nion H (1998). Peces del Río de La Plata y algunos aspectos de su ecología (cap. 6). En Wells PG y Daborn GR (1998). L Río de La Plata. Una revisión

ambiental. Un informe de antecedentes del proyecto Ecoplata. Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada. 256 pp.

Nordberg M y Nordberg GF (2002). Cadmium. Chapter 8. Heavy Metals in Environment. Marcel Dekker, Inc. 39 pp.

O'Shea TJ (1999). Environmental Contaminants and Marine Mammals. En: JE Reynolds III y SA Rommel (Eds.). Biology of Marine Mammals. Smithsonian Institution Press. Washington (EEUU), 485-560.

O'Shea TJ y Brownell RL (1994). Organochlorine and metal contaminants in baleen whales: a review and evaluation of conservation implications. The Science of the Total Environment 154: 179-200.

Páez E (1996). Simulaciones estocásticas en la población de *Otaria flavescens* en Uruguay. En: Resúmenes de la 7ª Reunión de Trabajo de Especialistas en Mamíferos Acuáticos de América del Sur, 22-25 Octubre 1996, Viña del Mar, Chile.

Parsons CM, Chan HM y Kinoshita R (1999). Trace metal and organochlorine concentrations in a pygmy Brydes whale (*Balaenoptera edeni*) from the South China Sea. Marine Pollution Bulletin 38: 51-55.

Peña NI, Moreno VJ, Marcovecchio JE y Perez A (1988). Total mercury, cadmium and lead distribution in tissues of the southern sea lion (*Otaria flavescens*) in the ecosystem of Mar del Plata, Argentina. En: Seelinger U, de Lacerda LD y Patchineelam SR (Eds.), Metals in Coastal Environments of Latin American, Springer, Berlin, Alemania, 140-146.

Pin O, Ponce de León A y Arim M (1996). Identificación de categorías alimentarias en contenido estomacal y fecas de lobo fino sudamericano *Arctocephalus australis* en Islas de Lobos, Uruguay. VII Reunión de Especialistas en Mamíferos Acuáticos de América del Sur, Primer Congreso de

la Sociedad Latinoamericana de Especialistas en Mamíferos Acuáticos. Viña del Mar. Octubre 1996. Resúmenes 95p.

Ponce de Leon (1997). Exploitation, management and actual situation of Otariid species in the southamerican uruguayan islands. Abstract. International Conference and Exhibition. St John's, Newfoundland, Canada. 25-27 November 1997.

Ponce de León A (2008). Estado de las poblaciones de lobos marinos de Uruguay. Informe Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA).

Ponce de León A, Malek A y Pin O (1988). Resultados preliminares del estudio de la alimentación del lobo fino sudamericano, *Arctocephalus australis* (Zimmermann 1783). Pinnipedia, Otariidae, para 1987-1988. Resúmenes, Tercera Reunión de Trabajo de especialistas en Mamíferos acuáticos de América del Sur.

Ponce de León A y Pin OD (2006). Distribución, reproducción y alimentación del lobo fino *Arctocephalus australis* y del león marino *Otaria flavescens* en Uruguay. 305 313 pp. En Menafría R, Rodríguez-Gallego L, Scarabino F y Conde D (2006). Bases para la conservación y el manejo de la costa uruguaya. Vida Silvestre Uruguay, Montevideo. 668 pp.

Reijnders PJH (1988). Ecotoxicological perspectives in marine mammalogy: research principles and goals for conservation policy. Marine Mammal Science. 4:91-102.

Reyes LM, Crespo EA y Szapkievich V (1999). Distribution and population size of the southern sea lion (*Otaria flavescens*) in central and southern Chubut, Argentina. Marine Mammal Science 15 (2): 478-493.

Riedman M (1990). The pinnipeds. Seals, sea lions, and walruses. University of California Press, Berkeley, CA, EEUU.

Ruelas-Inzunza JR, Horvat M, Perez-Cortes H y Paez-Osuna F (2003). Distribución de metil mercurio y mercurio en tejidos de ballenas grises (*Eschrichtius robustus*) y delfines tornillo (*Stenella longirostris*) varados en el bajo Golfo de California, Mexico. Ciencias Marinas 29(1): 1-8.

Sanpera C, Capelli R, Mingati R y Jover L (1993). Total and organic mercury in North Atlantic fin whales: distribution pattern and biological related changes. Marine Pollution Bulletin 26: 135-139.

Sanpera C, González M y Jover L (1996). Heavy metals in two populations of North Atlantic fin whales (*Balaenoptera physalus*). Environmental Pollution 91: 299-307.

Seixas TG, Kehrig H do A, Fillmann G, Di Benedetto APM, Souza CMM, Secchi ER, Moreira I y Malm O (2007). Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvillei*. Science of the Total Environment 385: 208-220.

Sielfeld W (1999). Estado de conocimiento sobre conservacion y preservacion de *Otaria flavescens* (Shaw 1800) y *Arctocephalus australis* (Zimmermann 1783) en las costas de Chile. Estudios Oceanológicos 18: 81-96.

Skoog D y Leary J (1994). Análisis instrumental cuarta edic. McGraw-Hill.España Cap.10 (228-268).

Sokal, RR y Rohlf FJ (1981). Biometry. The principles and practices of statistics in biological research, Freeman, NY, EEUU, 859 pp.

Solari M, Matteo V, Fresnedo C y Zeballos MC (1997). Revisión de la legislación y propuestas de armonización. Programa de acción estratégica para la protección ambiental del Río de La Plata y su frente marítimo. Proyecto PNUD-GEF: RLA/97/G41, Argentina/Uruguay, 59 pp.

Statsoft Inc (1995)

Suarez AA, Sanfelice D, Cassini MH y Cappozzo HL (2005). Composition and seasonal variation in the diet of the South American sea lion (*Otaria flavescens*) from Quequen, Argentina. LAJAM 4(2): 163-174.

Szefer P, Malinga M, Skora K y Pempkowiak J (1994). Heavy metals in harbour porpoises from the Puck Bay in the Baltic Sea. Marine Pollution Bulletin 28: 570-571.

Szteren D, Naya DE y Arim M (2004). Overlap between pinniped summer diet and artisanal fishery catches in Uruguay. The Latin American journal of aquatic mammals 3 2: 119-125.

UNEP, 2002. Global Mercury Assessment. United Nations Environment Programme, Ginebra, Suiza.

Vaz-Ferreira R (1956). Etología terrestre de *Arctocephalus australis* (Zimmermann) ("lobo fino") en las islas uruguayas. Trabajo sobre Isla de Lobos y Lobos Marinos (2) 1-22 pp.

Vaz-Ferreira R (1975). Behavior of the southern sea lion *Otaria flavescens* (Shaw) in the Uruguayan islands. Rapp PV.Reun. Con.Int. Explor. Mer 169: 219-227.

Vaz-Ferreira R (1982). *Otaria flavescens* (Shaw), South American sea lion. FAO Fisheries Series 5. Mammals in the Seas, 4: 477-495. Roma, Italia.

Vaz-Ferreira R y Sierra de Soriano B (1962). Estructura de una agrupación social reproductora de *Otaria byronia* (de Blainville), representación grafica. Servicio Oceanográfico y de Pesca. Departamento científico y técnico. Trabajos sobre islas de lobos y lobos marinos (3): 12 pp.

Viana F (2001). Metales pesados en peces de la costa de Montevideo, Uruguay. Tesis de Maestría en Biología. Sección Oceanografía, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, 97 pp.

Viana F, Huertas R y Danulat E (2005). Heavy metals levels in fish from coastal waters of Uruguay. Arch. Environ. Contamination and Toxicology 48: 530-537.

Wagemann R, Innes S y Richard PR (1996). Overview and regional and temporal differences of heavy metals in Arctic whales and ringed seals in the Canadian Arctic. The Science of the Total Environment 186: 41-66.

Wagemann R y Muir DCG (1984). Concentrations of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters: overview and evaluation. Canadian Technical Rep. Fish. Aquat. Sci. 1279-1280.

Wagemann R, Snow NB, Lutz A y Scout DP (1983). Heavy metals in tissues and organs of the narwhal (*Monodon monoceros*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 40: 206-214.

Wagemann R, Stewart REA, Lockhart WL, Stewart BE y Povoledo M (1988). Trace metals and methyl mercury: Associations and transfer in harp seal (*Phoca groenlandica*) mothers and pups. Marine Mammal Science 4: 339-355.

Watanabe I, Ichihashi H, Tanabe S, Amano M, Miyazaki N, Petrov EA y Tatsukawa R (1996). Trace element accumulation in Baikal Seal (*Phoca sibirica*) from the lake Baikal. Environmental pollution 94(2): 169-179.

Wood CM y Van Vleet S (1996). Cooper, cadmium and Zinc in liver of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranded in Florida. Marine Pollution Bulletin 32(12): 886-889.

Ximenez I y Langguth E (2002). Isla de Lobos. Ediciones por Nuestra Naturaleza. Uruguay.

York A, Lima M, Ponce de León A, Malrk A y Paez E (1998). First description pf diving female South American fur seals in Uruguay. Abstract Volume. Monaco. 153 pp.