



PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS-PEDECIBA

ÁREA: BIOLOGÍA | SUB-ÁREA: ECOLOGÍA Y EVOLUCIÓN

ELEMENTOS TRAZA EN DOS ESPECIES DE PINNÍPEDOS EN RELACIÓN A SUS HÁBITOS TRÓFICOS DURANTE SIETE DECADAS, EN URUGUAY

Lic. Maite De María

Facultad de Ciencias, Departamento de Ecología y Evolución, Universidad de la
República

Directora: Dra. Diana Szteren

Facultad de Ciencias, Departamento de Ecología y Evolución, Universidad de la
República

Co-director: Dr. Javier García-Alonso

Centro Universitario Regional Este, Grupo de Biodiversidad, Universidad de la
República

Agradecimientos

Al culminar esta tesis quisiera agradecer a todos los que estuvieron presentes durante este recorrido:

A Diana y Javier por sus correcciones y paciencia, compartir estos años junto a ustedes me hizo crecer mucho.

A María Salhi, Laura Rodríguez y Matías Arim por sus valiosas correcciones, aportes constructivos y gran disponibilidad para que se realizara esta etapa lo antes posible.

A el Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas, la Agencia Nacional de Investigación e Innovación por la beca de Maestría. La Comisión Sectorial de Investigación Científica por financiar mi viaje Rio para el análisis de muestras. A OAK Foundations Mini-Grants de Duke University por el financiamiento. También al Dr. David Auriol-Gamboa por cederme los datos de isótopos.

A Carlos E. Rezende por su cálida y afectuosa bienvenida en el Laboratorio de Ciencias Ambientales de UENF. También a Marcus José Godoy de la PUC, Rio, por creer en mis proyectos. A Rodrigo Araujo por su gran disponibilidad y trato tan humano en el Laboratorio de Absorción Atómica. A Beatriz Araujo por recibirme en su casa como una “garota” más y hacer inolvidable mi estadía en Campos.

A los Cuerpo Nacional de Guardaparques del Parque Nacional Cabo Polonio por su aporte invaluable para ésta tesis y para Museo Nacional de Historia Natural. Sin olvidarme del Palito, compañero de andanzas en las salidas de campo y que sin él los muestreos no hubiesen sido lo mismo.

A Daniel Brechia capataz de la Intendencia de Montevideo por los avisos sobre lobos muertos en las playas de Montevideo y su disponibilidad para dejarlos un días más.

A Omar Defeo por entenderme y permitirme la dedicación necesaria a esta tesis.

A Meica, Flor y Sabri, por su tiempo y gran compañía durante colectas, limpieza de material, además de grandes compañeras de en las etapas finales de la tesis.

A mis compañeros de estudio en las materias más difíciles que he tenido Rafa, Fede, Mariana.

A Demian gran compañero, paciente ante los avisos sobre lobos muertos a cualquier hora y en cualquier lugar, gran sustento en todas las etapas de esta tesis.

A mis grandes amigas, Thais, Vic y Beth, que me inspiraron en las situaciones más difíciles.

A mis padres grandes compañeros y pilares incondicionales.

Sobre todo a mi hermana, quien me acompañó más de lo que podía imaginar. No solo porque me acompañó en esta hazaña de trabajar con dientes de lobos marinos: juntó cabezas, extrajo de caninos, probamos dientes en cráneos, aguantó el olor del pudridero, buscamos la mejor pieza de mano para extraer la dentina y hasta me acompañaste cuando tenía que terminar las muestras con gastroenterocolitis.

A todos ustedes ¡Muchas Gracias!

Contenido

Resumen.....	4
Introducción.....	5
Hipótesis:	10
Objetivos específicos:.....	11
Materiales y Métodos.....	12
Análisis de elementos traza.....	13
Condiciones del análisis elemental	15
Análisis de datos	16
Resultados	19
Caracterización de elementos traza en la dentina de <i>Otaria flavescens</i> y <i>Arctocephalus australis</i>	19
Variación de la concentración de elementos traza según: el año promedio de vida, los hábitos y posición trófica, el sexo y la edad	20
Discusión	28
Hierro.....	28
Zinc.....	30
Aluminio	35
Niquel	37
Manganeso	38
Cobre	41
Selenio	47
Cromo	49
Plomo.....	53
Cadmio.....	60
Discusión general y conclusiones	65
Referencias bibliográficas	71
Anexo	91

Resumen

Los mamíferos marinos que habitan en áreas costeras son vulnerables a los elementos traza, ya que los ecosistemas marinos pueden tener un importante aporte debido a la cercanía de áreas urbanas o industrializadas. La medición de elementos traza en organismos asociado a la señal de isótopos estables, permite conocer el destino de éstos en el ecosistema. En la costa uruguaya habitan 2 especies de pinnípedos: *Otaria flavescens* y *Arctocephalus australis*, que presentan segregación trófica y por lo tanto distinta exposición a elementos traza desde su dieta. El objetivo de este estudio fue determinar las concentraciones de Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, Pb y Zn, en dientes caninos de ambas especies a lo largo de 70 años y asociarlo con sus hábitos y posición trófica. Se realizaron modelos lineales generalizados considerando el $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, edad, sexo y año promedio de vida como variables explicativas. En el caso de los elementos esenciales no se encontró ninguna asociación con dichas variables, por lo que serían elementos característicos de la dentina muy conservados entre especies y sexos en los últimos 70 años. En lo que respecta al Cu, Cr, Pb y Cd se encontraron distintas asociaciones. La concentración de Cu y Pb fue explicada por el $\delta^{13}\text{C}$, siendo mayores en individuos costeros debido a un probable aporte antrópico. A su vez, las mayores concentraciones del Pb y Cr se asociaron con mayores $\delta^{15}\text{N}$: individuos de ambas especies que ocupan mayor posición trófica presentaron mayores concentraciones. *O. flavescens* presentó mayores concentraciones de éstos 3 elementos por sus hábitos costeros y mayor posición trófica. El Cd presentó mayores concentraciones en individuos de ambientes más pelágicos, principalmente *A. australis* por la vectorización de Cd a través de los calamares y en menor medida en individuos de *O. flavescens*. En el análisis histórico, el Cr presentó un máximo en la concentración en la década de 80' coincidente con el auge de las curtiembres, su principal fuente de aporte antropogénico. Los resultados del presente trabajo destacan el potencial de la dentina como matriz para el estudio de la exposición ambiental de acuerdo a los hábitos y posición trófica, permitiendo realizar comparaciones temporales a gran escala.

Introducción

Los mamíferos marinos, ya sean depredadores tope o no, tienen un rol fundamental en la estructura y dinámica de las comunidades debido a su tamaño corporal y abundancia (Bowen 1997, Estes *et al.* 1998, Gotelli & Ellison 2006, Weise *et al.* 2010). Debido a sus rasgos de historia de vida como longevidad, madurez tardía y bajas tasas reproductivas, son sensibles al impacto antropogénico (Fair & Becker 2000). Este impacto puede ser de distinta naturaleza: la competencia por los recursos alimentarios con las pesquerías, solapamiento en el uso del hábitat, caza directa y la degradación de su hábitat, entre otros (Bowen 1997, Yodzis 2001, Mattiopoulos *et al.* 2008, Jamiska *et al.* 2011).

Más del 80% de la humanidad habita en ambientes costeros y la dependencia de los recursos de estos ecosistemas marinos es aún más amplia (Inda *et al.* 2011). Por tal razón es fundamental conocer la variabilidad natural de los sistemas costeros y monitorear el impacto humano en vista de prácticas sustentables de manejo. Las áreas costeras son los ecosistemas marinos más dinámicos y amenazados por el impacto antropogénico (Halpern *et al.* 2007, 2008). Debido a su cercanía a las áreas urbanas o industrializadas son vulnerables al aporte de elementos traza (Fowler 1990, Habran *et al.* 2012). Estos elementos traza se clasifican de acuerdo a su funcionalidad (Skoch 1990) en esenciales y no esenciales. Los primeros juegan un papel importante en el metabolismo de los organismos, y son necesarios en cantidades mínimas pero se pueden tornar tóxicos una vez que rebasan cierta concentración (*e.g.* cobalto, manganeso, selenio y zinc; Ando *et al.* 2005). Un segundo grupo está formado por elementos no esenciales que presentan alta toxicidad a bajas concentraciones (*e.g.* arsénico, cadmio, plomo y mercurio). Estos no desempeñan funciones biológicas normales y su presencia en los tejidos puede reflejar el contacto con un ambiente contaminado por actividades antropogénicas o un aumento de la concentración por actividades naturales (Evans *et al.* 1995).

Libes (2009) caracteriza el aporte natural de elementos traza, desde ríos como la principal vía de entrada a los océanos, ya sea como elementos particulados o disueltos. A su vez durante actividades mineras, se expone la superficie de la roca por lo que algunos elementos se movilizan mediante lixiviado en periodos de lluvia, otros se volatilizan. También menciona que aquellos como Cd, Pb, Cu, As, Ni son

introducidos a los océanos como el resultado de las emisiones durante la quema de combustibles fósiles en automóviles y centrales eléctricas, dichas emisiones superan ampliamente las emisiones naturales. Otro aporte de elementos traza puede ser a través de la deposición de desechos, explosiones o ciertas pérdidas desde estructuras metálicas.

Los elementos traza pueden afectar a los organismos vivos debido a su toxicidad potencial, en los que pueden ocurrir procesos de bioacumulación. Dichos procesos ocurre cuando un organismo absorbe un compuesto a una tasa mayor a la que es excretada (Zhou *et al.* 2008). Los elementos bioacumulados se transfieren principalmente a través de la trama trófica desde los organismos que ocupan posiciones bajas hacia los depredadores tope (Das *et al.* 2000). La medición directa de elementos traza en organismos puede proveer datos sobre la disponibilidad, la movilidad y el destino en el ambiente de un elemento en el ecosistema (Kurucz *et al.* 1998). La bioacumulación y la exposición prolongada a contaminantes inorgánicos podrían representar una amenaza para la salud y viabilidad de los mamíferos marinos (Fair & Backer 2000). Algunos autores sugieren que la acumulación de elementos traza y otros contaminantes (bifenilos policlorados) podría estar relacionado con el declive poblacional en belugas (Becker & Krahn 2000). La presencia de determinados niveles de elementos traza en mamíferos marinos puede utilizarse como un indicador de un proceso de contaminación en el ambiente que habitan (Gerpe *et al.* 2002).

Se han encontrado altas concentraciones de Pb, Hg, Cd, Cu, Zn y Cr en mamíferos marinos, tanto en órganos como en hueso y diente (Evans *et al.* 1995, O'Shea 1999, Ando *et al.* 2005, Panebianco *et al.* 2012). Dichas concentraciones son difíciles de interpretar ya que los hábitos alimenticios y otros aspectos del nicho ecológico, como áreas de alimentación y diferentes estrategias entre sexos, son factores importantes que condicionan la acumulación de elementos traza (Marcovecchio & Gerpe 1994, Jakimska *et al.* 2011, Habran *et al.* 2012). Las interpretaciones también se dificultan porque cada órgano o matriz analizada integra distintos periodos de tiempo de acuerdo a características del elemento y de la propia matriz analizada (Fair & Becker 2000, Ando *et al.* 2005, Bjerregaard *et al.* 2015). Diente y hueso son matrices calcificadas. Es posible que los tejidos calcificados expuestos a elementos traza los acumulan durante su fase de formación, siendo matrices

resistentes y estables (Robinowitz *et al.* 1993, Klevezal 1996, Brown *et al.*, 2002, Falla-Sotelo *et al.* 2005, Outridge *et al.* 2005, Webb *et al.* 2005, Aubail *et al.* 2010, Kamberi *et al.* 2012). Existen 3 mecanismos principales de deposición de los elementos traza en hueso (Pirest 2004) que podrían ser muy similares en la dentina, siendo su formación y su funcionamiento muy similares (Levine 2011). Los elementos traza pueden incorporarse a la superficie por intercambio heteroiónico con el calcio en los cristales de hidroxiapatita, principalmente en la cubierta de hidratación de los cristales (Neuman & Neuman 1958, Farlay & Boivin 2012). Un intercambio heteroionico hace referencia a que un ion Calcio o fosfato es reemplazado en los cristales de hidroxiapatia por un ion de otro elemento. El intercambio iónico en la cubierta de hidratación probablemente sea un precursor necesario para el intercambio con la estructura cristalina, siendo un intercambio reversible (Priest 2004). Los iones divalentes sustituyen al Ca^{2+} , mientras que los trivalentes reemplazan los iones fosfato (Wakamura *et al.* 2000). El segundo mecanismo implicaría que los elementos traza co-precipiten con el calcio en los sitios de formación de hueso y se incorpore a la estructura de los cristales de hidroxiapatita en formación (Blumenthal 1990, Priest 2004) donde quedan fijados. Por último, los elementos traza pueden estar unidos a componentes orgánicos como los glucosaminoglicanos y glicoproteínas, entre otros, proteínas también presentes en la dentina (Triffitt 1985, Priest 2004). Las matrices calcificadas debido a su baja tasa de remoción son integradoras de largo tiempo (Evans *et al.* 1995, Martínez-García *et al.* 2005, Kamberi *et al.* 2012). Particularmente en el caso de los dientes, cada año se depositan capas de dentina, por lo que el análisis global permite reconstruir la composición elemental del individuo a lo largo de toda su vida (Hobson & Sease, 1998).

Para entender el destino de los contaminantes y elementos traza y su impacto en el ecosistema marino, es esencial el conocimiento de la trama trófica y de los ciclos biogeoquímicos de los elementos (Van de Vijver *et al.* 2003). Los estudios de isótopos estables han crecido en importancia en estudios en ecología (Dehn *et al.* 2006 a). Los isótopos son átomos de un mismo elemento que difieren en el número de neutrones presentes en el núcleo, un número extra de neutrones produce cambios sutiles entre las distintas formas químicas de un elemento. Esta diferencia en el número de neutrones altera la masa de los átomos, teniendo así isotopos pesados y

livianos. Los isótopos pesados requieren más energía para las reacciones químicas, por lo que se produce un fraccionamiento entre ambas formas, *i.e.* las livianas se eliminan de los tejidos y las formas pesadas se acumulan (Fry 2006). Generalmente ocurre que los isótopos experimentan un fraccionamiento a lo largo de la red trófica donde los depredadores muestran valores isotópicos más altos que los de sus presas (Owens 1987). Los isótopos pesados de la presa se acumulan en los consumidores, produciéndose un enriquecimiento sistemático en cada nivel trófico, siendo éste fraccionamiento más notorio en el caso del nitrógeno (Kelly 2000). Así, el $\delta^{15}\text{N}$ ($\frac{^{15}\text{N}}{^{14}\text{N}}$) permite inferir el nivel trófico de un consumidor (De Niro & Epstein 1981) y la posición y amplitud trófica de los organismos (Post 2002). Por otra parte, la razón de los isótopos de carbono $\delta^{13}\text{C}$ ($\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$) da cuenta del origen de fuentes de materia orgánica que circulan en el ecosistema. Se debe a fenómenos como la concentración de CO_2 disuelto en el agua de mar, que a su vez está asociada a la temperatura, la composición de las presas y la tasa de crecimiento del fitoplancton y de macrófitas bentónicas (Michener & Schell 1994, Goericke & Fry 1994). Así, permite distinguir entre tramas tróficas con fuente de carbono béntonica o pelágica y costera u oceánica (Burton & Koch 1999), debido a las diferencias encontradas en la señal de C de la base de la trama trófica (Hobson *et al.* 1995). Los ambientes costeros o bentónicos se encuentran más enriquecidos, por lo que la señal de $\delta^{13}\text{C}$ es mayor que en los pelágicos (Burton & Koch 1999). La mayor ventaja de ésta técnica radica en que la información que provee está asociada al alimento asimilado y no solo al ingerido. Los isótopos estables son una herramienta muy útil para trazar las rutas de energía y material a través de los ecosistemas a diferentes escalas (Hobson & Sease, 1998, Vander Zanden & Fetzer 2007). El hueso y los dientes también son matrices integradoras de las relaciones isotópicas a largo plazo debido a su baja tasa de remoción (Hirons *et al.* 2001).

Actualmente existen pocos estudios que reporten la concentración de elementos traza en dientes de mamíferos marinos, pero los resultados han sido suficientes para destacar la potencialidad de la matriz (Yammamoto *et al.* 1986, Outridge *et al.* 1997, Ando *et al.* 2005, Kinghorn *et al.* 2008). Los elementos traza más estudiados han sido Pb, Cd, Fe, Se y Hg, ya sea por su abundancia en dicha matriz o por su interés ambiental (Yammamoto *et al.* 1987, Kinghorn *et al.* 2008). Adicionalmente

son pocos los trabajos que analizan dichas concentraciones en relación con isótopos estables de C y N como aproximaciones de la dieta para determinar los mecanismos de incorporación de éstos elementos traza (Woshner *et al.* 2001a y b, Das *et al.* 2003a y 2004, Outridge *et al.* 2005, Kinghorn *et al.* 2008).

En la costa uruguaya habitan dos especies de pinnípedos, el león marino Sudamericano, *Otaria flavescens* (Shaw, 1800) y el lobo fino Sudamericano, *Arctocephalus australis* (Zimmermann, 1738) (Vaz-Ferreira 1981). Las poblaciones de ambas especies actualmente presentan tendencias contrastantes (Páez 2006). En 1953 ambas especies contaban con aproximadamente 30.000 individuos. Hoy en día, la población de lobo fino presenta alrededor de 350.000 individuos y una tendencia creciente, mientras que la de leones marinos se ha reducido a un tercio de su tamaño (12.000 individuos aproximadamente) y continúa disminuyendo (Páez 2006, DINARA 2012). En cuanto a las áreas de alimentación y posición trófica, se ha encontrado una segregación espacial: los leones marinos se alimentan en áreas costeras (Vaz Ferreira 1981, Franco-Trecu *et al.* 2012, 2014, Riet-Sapriza *et al.* 2013) y los lobos finos lo hacen principalmente fuera de la plataforma continental, aunque también se alimentan en el Río de la Plata (Vaz-Ferreira 1981, Vales *et al.* 2013). Ambas especies de pinnípedos poseen dietas ictícolas y los lobos finos incluyen en su dieta una importante proporción de calamares y peces pelágicos (Naya *et al.* 2002, DINARA 2012, Franco-Trecu *et al.* 2012, Vales *et al.* 2013).

La salud de la costa uruguaya ha sido clasificada como de medio-alto impacto humano (Halpern *et al.* 2007). En el Río de la Plata, se han encontrado altas concentraciones de elementos traza tanto en sedimento como en agua, siendo notorio el aumento de éstos en las últimas décadas, relacionado con la creciente urbanización (Carsen 2002, Marcovecchio & Ferrer 2005, García-Rodríguez *et al.* 2010, La Cola *et al.* 2015). La presencia de dos grandes capitales, Montevideo y Buenos Aires, implica un gran impacto en el ecosistema por la deposición de residuos antropogénicos y efluentes industriales que transportan elementos traza (Gil *et al.* 1999, Viana *et al.* 2005). El puerto de Montevideo y sus alrededores presentan niveles de metales considerados tóxicos (Muníz *et al.* 2004). En la costa de Montevideo se han detectado elevadas concentraciones de Zn en órganos y/o músculo de peces bentónicos como la corvina (*Micropogonias furnieri*) y la brótola (*Urophycis brasiliensis*) (Viana *et al.* 2005). Ambas especies son presas de los

pinnípedos que habitan en la costa uruguaya (Naya *et al.* 2002). Por otro lado, el Cd, un elemento potencialmente tóxico, se acumularía naturalmente en calamares (Bustamante 1998, Gerpe *et al.* 2000, Pierce *et al.* 2008), importante ítem de la dieta de *A. australis*. Los metales presentes en los sedimentos no son degradados pudiendo acumularse localmente, o ser transportados largas distancias (Marchand *et al.* 2006), encontrándose elevadas concentraciones de Cd y Pb en riñón e hígado de pinnípedos y franciscanas (*Pontoporia blainvillei*) de nuestras costas y de Argentina (Gerpe *et al.* 2006, Tagliamonte 2009, Foglia 2013).

Debido a las tendencias contrastantes en ambas especies de pinnípedos, sus hábitos tróficos distintos y por lo tanto, el potencial aporte diferencial de elementos traza, el objetivo general de este estudio fue analizar la composición elemental en dientes caninos de ambas especies en relación a su señal de isótopos de C y N desde 1940-2013. Es una matriz resistente y que permitió realizar comparaciones en el tiempo para detectar si han ocurrido cambios en el aporte de elementos elementos traza.

Hipótesis:

- Ambas especies de pinnípedos presentarán un aumento progresivo en las concentraciones de elementos traza en dientes desde 1940 hasta la actualidad, debido a que esta misma tendencia se ha encontrado en rasgos generales en sedimentos de Montevideo y a la creciente urbanización de 2 capitales cercanas (Montevideo y Buenos Aires) que pueden aportar grandes concentraciones de éstos elementos.
- *O. flavescens* se verá más expuesta a metales que *A. australis* debido a sus hábitos costeros. Se espera encontrar mayores concentraciones de metales y mayores valores de $\delta^{13}\text{C}$ que en *A. australis*.
- *A. australis* presentará una mayor concentración de Cd en los dientes caninos, debido a que los calamares son un ítem importante en su dieta. Se predice que dichas concentraciones mayores coincidirán con $\delta^{13}\text{C}$ correspondiente a hábitos pelágicos, o sea una señal isotópica más empobrecida de éste elemento.

Objetivos específicos:

- 1) Analizar las concentraciones de elementos traza: As, Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se y Zn en dientes de *O. flavescens* y *A. australis* en una serie histórica que cubre en los últimos 70 años.
- 2) Comparar las concentraciones de elementos traza en ambas especies de pinnípedos en relación a las zonas donde se alimentan y su posición trófica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$). Considerando otras variables que pueden afectar la concentración de elementos traza como el sexo y la edad de los individuos.

Materiales y Métodos

Este estudio se realizó en base a la extracción y colecta de dientes en machos y hembras de *O. flavescens* y *A. australis* a partir de colecciones científicas y de ejemplares varados en diversos puntos de la costa Uruguaya. Se analizaron 33 muestras pertenecientes a *O. flavescens* y 58 a *A. australis*. Se determinó la edad y el sexo. Posteriormente, se extrajo dentina para la determinación de elementos traza. Adicionalmente se determinó la señal de C y N en el colágeno dental. Debido a que los dientes constituyen parte del tejido óseo, el análisis de su matriz permitió un registro histórico continuo de 7 décadas, desde 1940-2013.

Los dientes caninos correspondientes 1940-2011 pertenecen a las colecciones científicas del Museo Nacional de Historia Natural y de la Facultad de Ciencias (UdelaR). Los ejemplares colectados en 2012 y 2013 fueron obtenidos en salidas de campo a zonas aledañas y en las colonias de pinnípedos (Isla de Lobos, Punta del Este, Cabo Polonio, Valizas, Aguas Dulces) y de manera oportunista en Montevideo.

Se determinó el sexo de los individuos mediante morfometría lineal de caninos superiores, según la metodología establecida por Lowry & Folk (1990) para un león marino de California, *Zalophus californianus* y elegida por Molina-Schiler & Pinedo (2004) como la más adecuada para *A. australis*. Se utilizó un análisis discriminante para obtener la mayor probabilidad de agrupación a un sexo, a partir de las medidas morfométricas. La edad fue determinada mediante el conteo de las capas anuales de crecimiento, para ello los dientes fueron cortados por el eje antero-posterior con una sierra de baja velocidad Isomet con un disco de diamante. Luego se contaron las capas de crecimiento por contraste de luz o con lupa. Los individuos muestreados fueron aquellos que tenían al menos 4 años de edad, ya que a partir de ese año alcanzan un tamaño muy cercano al del adulto (Rosas *et al.* 1993, Lima & Páez 1995), pero sobretodo porque su dieta no presenta diferencias significativas con el resto de las edades, salvo los cachorros que no fueron considerados en este estudio (Szteren, datos no publicados) (Anexo Fig. 1). Excepcionalmente se muestrearon algunos individuos juveniles, de 2 y 3 años pertenecientes a algunas décadas pasadas en que el número de individuos adultos era muy escaso, de todas formas, su dieta no presenta diferencias notorias. Se muestrearon todos los

individuos pertenecientes a *O. flavescens* alojados en las colecciones que cumplieron con este criterio (Anexo Fig. 2).

Para determinar los perfiles de C y N se obtuvieron muestras de dentina de cada banda de crecimiento para cada individuo utilizando un taladro de alta precisión MicroMill System en el Laboratorio de Ecología de Pinnípedos “Burney J. Le Boeuf” del CICIMAR, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, México. Para aislar el colágeno dental, la dentina colectada se desmineraliza con ácido clorhídrico (10%). Las muestras de colágeno dental (1 mg) se encapsularon y se enviaron a la Universidad de California, Davis, EE.UU. para el análisis de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en un espectrómetro de masas de razones isotópicas. La proporción de isótopos estables de un elemento se representa como δ , en relación a un estándar, según la ecuación propuesta por De Niro & Epstein (1978):

$$\delta^{15}\text{N} \text{ o } \delta^{13}\text{C} = 1000((R_{\text{muestra}} / R_{\text{estándar}}) - 1)$$

donde R_{muestra} y $R_{\text{estándar}}$ son las razones entre $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ó $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ de la muestra y el estándar respectivamente. Las unidades de medida se expresan en partes por mil (‰) y los estándares internacionalmente reconocidos son la Pee Dee Belemnita PDB para carbono y el nitrógeno atmosférico N_2 para el nitrógeno. Los análisis de isótopos estables y la determinación de la edad fueron realizados anteriormente, en el marco del proyecto “Pinnípedos como bioindicadores de cambios en el ecosistema costero uruguayo: un estudio a largo plazo basado en isótopos estables”. Cuyos responsables fueron D. Szteren y D. Aurióles-Gamboa

Análisis de elementos traza

Para realizar a la determinación de elementos traza en una primera etapa se limpió una hemi-mitad de cada canino, seguida de la extracción de la dentina y su posterior digestión ácida para el análisis en un espectrómetro de masas.

Se procedió a la limpieza de una hemi-mitad de cada canino, siguiendo el protocolo establecido por Shafer *et al.* (2008) para eliminar la contaminación debido al almacenamiento de los dientes. Para ello, se realizó una lixiviación secuencial, lavado con peróxido de hidrógeno (50%), acetona y por último, con ácido nítrico (0,1 N). Cada etapa de lavado fue seguida de un enjuague de la muestra con agua miliQ. A continuación, los dientes se secaron en estufa durante 1 hora a 60°C.

Posteriormente, se extrajo aproximadamente 200 mg de dentina de cada muestra utilizando una piedra de diamante y un micro-motor manual a baja velocidad (Saeyang Marathon) en los laboratorios del Centro Universitario Regional Este (CURE), Maldonado. Durante dicha extracción se muestreó de forma unifroma todas las bandas de crecimiento, evitando la capa fetal. Finalmente, las muestras se digirieron en 2 ml de ácido nítrico ultra puro durante 24 horas en el laboratorio de Ciencias Ambientales de la Universidad Estadual du Norte Fluminense, Rio de Janeiro Brasil. Finalmente, se determinó la concentración de Al, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Se y Zn. El criterio de selección se basó en el hecho de que muchos de éstos elementos se encuentran frecuentemente en áreas urbanizadas (Poletto *et al.* 2009). Para la determinación de la concentración de elementos traza se utilizó un espectrómetro de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS, por sus siglas en inglés, 7500 CX Agilent Technologies Tokyo, Japón) en el laboratorio de Absorción Atómica en la Universidad Pontifica Católica do Rio de Janeiro, Brasil (Webb *et al.* 2005, Shafer *et al.* 2008). La principal ventaja del ICP-MS es la alta sensibilidad en relación a otros métodos, siendo la herramienta ideal para el análisis de elementos traza acumulados en organismos, ya habiéndose utilizado en diente (Lee *et al.* 1999, Webb *et al.* 2005), las determinaciones pueden ser en hasta en ng/g. Las condiciones y parámetros de funcionamiento se muestran en la Tabla 1. El material de referencia certificado fue CRM NIST 1400 (ceniza de hueso). Las concentraciones se calcularon usando blancos y una estandarización interna de Rodio (^{103}Rh). El peso seco de las muestras fue calculado en base a una corrección de un 3% de humedad. Dicho valor fue determinado mediante una prueba de secado de 5 muestras que fueron sometidas a el mismo protocolo. Se secaron en estufa 60°C en períodos de 12 horas hasta alcanzar la estabilidad del peso. En todos los casos la reducción de la masa fue de un 3%.

Tabla 1. Condiciones de funcionamiento y parámetros del ICP-MS utilizado para el análisis de elementos traza en dentina de pinnípedos.

Condiciones de funcionamiento	
Potencia RF (W)	1500
Ar Plasma (L min ⁻¹)	17
Ar Auxiliar (L min ⁻¹)	1
Ar Nebulización (L min ⁻¹)	0,86
Flujo de muestra (mL min ⁻¹)	1
Conos	Niquel
Réplicas	5
Operación del detector	Modo Dual
Tipo de Nebulizador	Concéntrico

Condiciones del análisis elemental

La calidad de los análisis elementales se comparó con el material de referencia, en la Tabla 2 se muestran los valores certificados y de recuperación del análisis, así como los límites de detección para los elementos analizados. Las mediciones de la concentración de hierro se realizaron con las muestras diluidas 5 veces. Para poder realizar los análisis estadísticos en aquellas muestras que se encontraron por debajo del límite de detección, se consideró la mitad del límite de detección del ICP-MS para cada elemento (Sánchez-Chardi *et al.* 2007, Dehn *et al.* 2006 a y b). Únicamente en el caso del As, más de la mitad de las muestras se encontraron por debajo del límite de detección por lo que no se analizó la variación estadísticamente. En el resto de los elementos se encontraron como máximo 3 observaciones por debajo del límite de detección.

Tabla 2. Concentración de elementos traza en el estándar certificado (CRM NIST 1400), valores de recuperación durante el análisis y límite de detección en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. En el caso del Cr y el Ni el NIST 1400 no cuenta con valores de referencia.

Elemento	Valor Certificado $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Valor de Análisis $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	Límite de detección $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
Al	530	519	0,095
Cr	---	2,9	0,005
Mn	17	17,3	0,005
Fe	660 ± 27	646	38,4
Ni	---	0,5	0,020
Cu	2,3	2,24	0,055
Zn	181 ± 3	179	0,008
As	0,4	0,42	0,002
Se	0,08	0,077	0,030
Cd	0,03	0,031	0,0005
Pb	$9,07 \pm 0,12$	8,98	0,001

Análisis de datos

En una primera etapa se analizó la concentración de cada elemento traza entre especies, a modo de análisis descriptivo. Para ello, se realizó un Test de t, ya que la concentración de los elementos traza en la escala medida o logarítmica cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para verificar los supuestos se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov y Levene respectivamente. Posteriormente, se promediaron los datos isotópicos de cada capa de crecimiento (excluyendo la capa fetal), obteniéndose un valor por individuo, dato que fue asociado con sus correspondientes concentraciones de elementos traza. Con el fin de comparar las concentraciones de los elementos traza en función de $\delta^{13}\text{C}$, se corrigió la señal de carbono por el efecto Suess. Dicho efecto es el cambio en la proporción entre el ^{13}C y ^{12}C debida al aumento del CO_2 , proveniente de la quema de combustibles fósiles, lo que implica una caída sistemática de la señal del $\delta^{13}\text{C}$ aproximadamente desde 1950 hasta la actualidad. Ésta disminución constante se ha reportado en estudios históricos de cetáceos y pinnípedos (Francey *et al.* 1999, Cullen *et al.* 2001, Newsome *et al.* 2007, Hanson *et al.* 2009, Matthews & Ferguson

2014, Zenteno *et al.* 2014), como: $\delta^{13}\text{C}$ corregido = $\delta^{13}\text{C} - (0,02 \times \text{años transcurridos desde la mitad de la vida hasta 2013})$. Las presas costeras de ambas especies presentan valores de $-15,38\text{‰} \pm 0,69\text{‰}$ y $16,42\text{‰} \pm 0,63\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ respectivamente. Mientras que las presas pelágicas presentan valores de $-18,01\text{‰} \pm 0,67\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ y $14,27\text{‰} \pm 0,92\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$ (Franco-Trecu *et al.* 2012)

La concentración de cada elemento traza se modeló con un Modelo Lineal Generalizado (GLM, por las siglas en inglés) utilizando el software R (Development Core Team 2011), e incluyendo como posibles variables explicativas la señal de $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$, edad, año promedio de vida y sexo. El año promedio de vida fue estimado como el año al que se corresponde la mitad de la vida del individuo, calculado como: $\text{año de colecta} - \frac{\text{edad}}{2}$. En caso que el ejemplar haya vivido un número impar de años se lo asigna al año siguiente, como el año promedio de vida. La variable especie no fue incluida en los modelos debido a que *O. flavescens* y *A. australis* presentan segregación trófica (Franco-Trecu *et al.* 2012 y 2014, Drago *et al.* 2015) que se refleja en ambas firmas isotópicas a nivel histórico (Szteren datos no publicados), por lo que sería una variable redundante. Por tal razón, se optó por utilizar las firmas isotópicas que estén estrechamente relacionadas con los hábitos y posición tróficas. Adicionalmente, las especies presentan cierta superposición tanto en la señal de C como la de N que permitió analizarlas en conjunto. La variable de respuesta es la concentración de cada elemento traza en cada GLM. Para todos los elementos se realizaron análisis exploratorios utilizando gráficos XY, de cajas y bigotes y matrices de correlación, permitiendo ver la forma y el grado de la asociación posible entre la variable de respuesta y las variables explicativas continuas, así como también la interacción entre variables (ver Anexo). Se analizó específicamente la variación temporal de la concentración de cada elemento traza para cada una de las especies. De esta forma, se buscaron grandes tendencias en el tiempo, de modo de incluir el año promedio de vida como variable explicativa de la concentración de cada elemento traza, con la forma apropiada para dicha asociación (ver Anexo). A partir de los resultados obtenidos en dichos análisis exploratorios, se partió del GLM más complejo hacia el más simple, utilizando el criterio de información de Akaike (AIC). La concentración de cada elemento presentó distribución normal o log-normal, por lo que la familia de distribución escogida en

el GLM fue gaussiana y la función de conexión identidad. En todos los casos el ajuste del modelo se evaluó mediante el análisis de residuales. Para todos los parámetros del GLMs del presente trabajo, los niveles de significancia se muestran con asteriscos: $p < 0.05$ con *, $p < 0.005$ ** y $p < 0.001$ ***.

En caso de que la concentración de los elementos traza analizados no retuvo la variable edad, ni el tiempo como variable explicativa, se analizaron los residuales de los modelos escogidos en función de la variable edad y año promedio de vida, con el fin de encontrar alguna tendencia no lineal no considerada. En ninguno de los modelos escogidos debió reconsiderarse agregar alguna de éstas variables.

Resultados

Caracterización de elementos traza en la dentina de *Otaria flavescens* y *Arctocephalus australis*

Ambas especies de pinnípedos presentaron concentraciones relativas muy similares de todos los elementos traza, siendo el Fe el elemento presente en mayor concentración, seguido por el Zn, Al y Ni (Tabla 3). En *A. australis* la concentración de Zn fue significativamente mayor que la de *O. flavescens* (Tabla 3). *A. australis* presentó el siguiente orden en base a sus concentraciones relativas de: Mn > Cu > Se > Cr > Pb > Cd, mientras que en *O. flavescens* el Cu presentó mayor concentración promedio que el Mn. Por su parte, *O. flavescens* la concentración media de Pb superó la media de Se. Los elementos restantes presentaron las mismas concentraciones relativas entre especies (Se > Cr > Cd). La concentración media y el rango de variación de los elementos traza se encontró muy conservada entre especies, salvo el caso del Cu, Pb y Cd. Además, la concentración de Pb y Cu fue significativamente mayor en *O. flavescens*, mientras que la de Cd fue mayor en *A. australis* (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración de elementos traza en dentina de *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens* ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, peso seco) en la costa uruguaya durante 7 décadas, se muestra la media, el intervalo de confianza (IC) y la significancia del test de t entre especies. En el caso del Hierro (Fe)* la concentración se expresa en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

Elemento	<i>Arctocephalus australis</i>		<i>Otaria flavescens</i>		<i>p</i>
	media	IC	media	IC	
Fe*	4,90	4,45-5,34	4,85	4,22-5,48	0,900
Zn	104,06	92,08-116,04	81,81	73,09-90,53	0,002
Al	24,06	14,83-33,29	18,41	9,68-27,15	0,390
Ni	4,17	3,70-4,64	3,70	3,21-4,19	0,180
Mn	1,09	0,99-1,18	0,96	0,87-1,06	0,076
Cu	0,85	0,63-1,07	1,42	1,03-1,80	0,002
Se	0,30	0,28-0,34	0,32	0,28-0,35	0,730
Cr	0,17	0,13-0,22	0,15	0,12-0,18	0,870
Pb	0,17	0,14-0,20	0,43	0,28-0,57	<0,0001
Cd	0,08	0,06-0,09	0,01	0,08-0,02	<0,0001

Variación de la concentración de elementos traza según: el año promedio de vida, los hábitos y posición trófica, el sexo y la edad

Los elementos traza Fe, Ni, Mn y Se presentaron distribución normal. Ninguna de las variables explicativas propuestas, fue retenida en los GLMs correspondientes. Las concentraciones de Zn y Al presentaron distribución log-normal y tampoco se encontró una relación con ninguna de las posibles variables explicativas. La concentración de dichos elementos en la dentina de *A. australis* y *O. flavescens* fue constante en el tiempo, según la firma de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$, la edad y el sexo.

Por su parte, los elementos Cu, Cr, Pb y Cd presentaron distribución log normal y la función de conexión utilizada fue identidad.

En el caso de Cu, las variables retenidas por el modelo fueron el $\delta^{13}\text{C}$ y el sexo. A su vez, el modelo presentó la interacción significativa entre ambas variables ($p < 0,005$). Fue notorio el aumento lineal del logaritmo de la concentración de Cu en relación al aumento en la señal de carbono. Las señales más altas en C y de Cu, corresponden generalmente a *O. flavescens* (Fig. 1). A su vez, las hembras que presentaron señales más bajas de carbono presentaron concentraciones notoriamente menores que los machos (concentraciones generalmente correspondientes a *A. australis*). Mientras que las hembras mayoritariamente de *O. flavescens* presentaron concentraciones muy similares a los machos.

El modelo para el Cu para las hembras, considerando los efectos parciales fue:

$\text{Ln}(\text{Cu}) = 5,16^{***} + 0,414^{**} (\delta^{13}\text{C})$, mientras que para los machos fue:

$\text{Ln}(\text{Cu}) = 1,05^{**} + 0,82^{**} (\delta^{13}\text{C})$. La devianza explicada de este modelo fue de 26,3%.

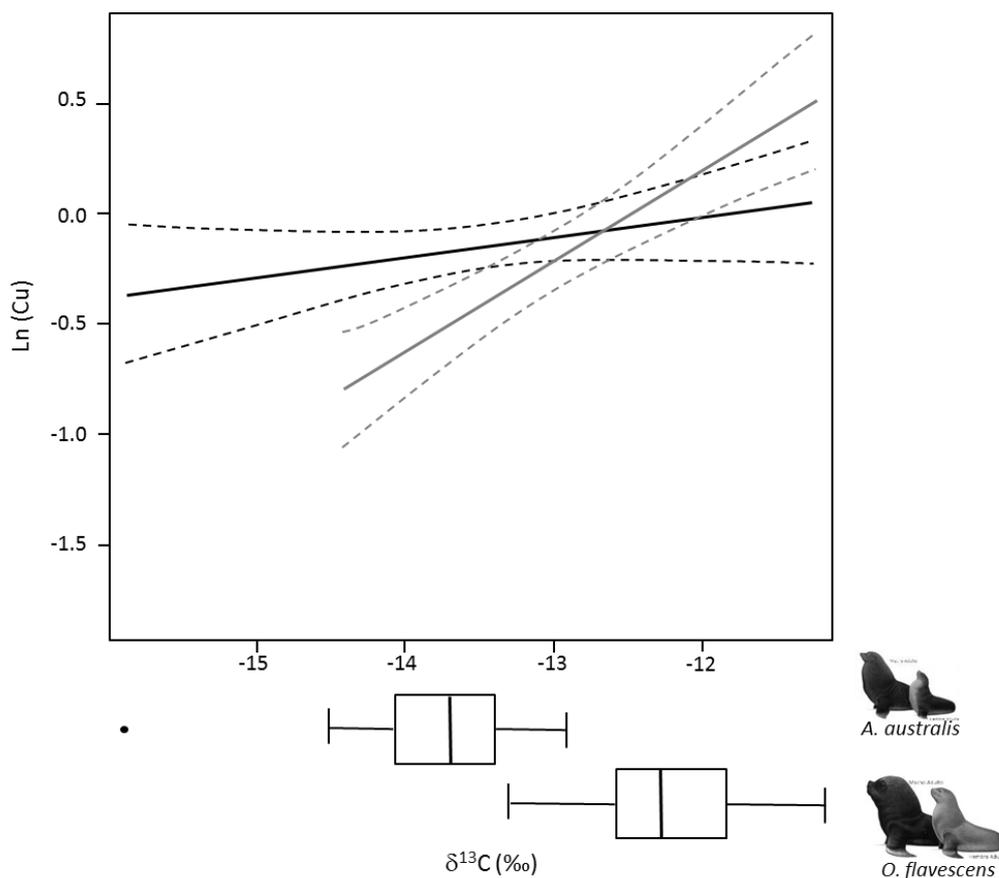


Figura 1. Efecto de $\delta^{13}\text{C}$ en ambos sexos en el logaritmo de la concentración de Cu de *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens* en la costa uruguaya durante 7 décadas. Se muestra la tendencia media (-) y el intervalo de confianza al 95% (- -). En gris se representan las hembras y en negro los machos. Abajo se muestra el $\delta^{13}\text{C}$ para ambas especies de pinnípedos.

El Cr fue el único elemento que presentó una tendencia en el tiempo. El GLM para éste elemento retuvo como variables explicativas el año promedio de vida, con una función polinomial de orden 2, la señal de $\delta^{15}\text{N}$ y el sexo. Este elemento presentó una concentración máxima en la década de 1980 para ambas especies (Fig. 2a). Por otra parte, el efecto parcial de la señal de $\delta^{15}\text{N}$ en la concentración Cr, fue lineal y aumentó a medida que aumentó el $\delta^{15}\text{N}$ (Fig. 2b)

El modelo de Cr para las hembras, considerando los efectos parciales fue:

$$\text{Ln (Cr)} = -4,43^{***} + 0,40(\text{año promedio de vida}) - 2,16^*(\text{año promedio de vida})^2 + 0,11^*(\delta^{15}\text{N})$$

Mientras que para los machos:

$$\text{Ln (Cr)} = -4,00^{***} + 0,40 (\text{año promedio de vida}) - 2,16^* (\text{año promedio de vida})^2 + 0,11^*(\delta^{15}\text{N}).$$

Los machos presentaron concentraciones significativamente mayores que las hembras ($p < 0,05$) (Fig. 2c). La devianza explicada fue de 14%.

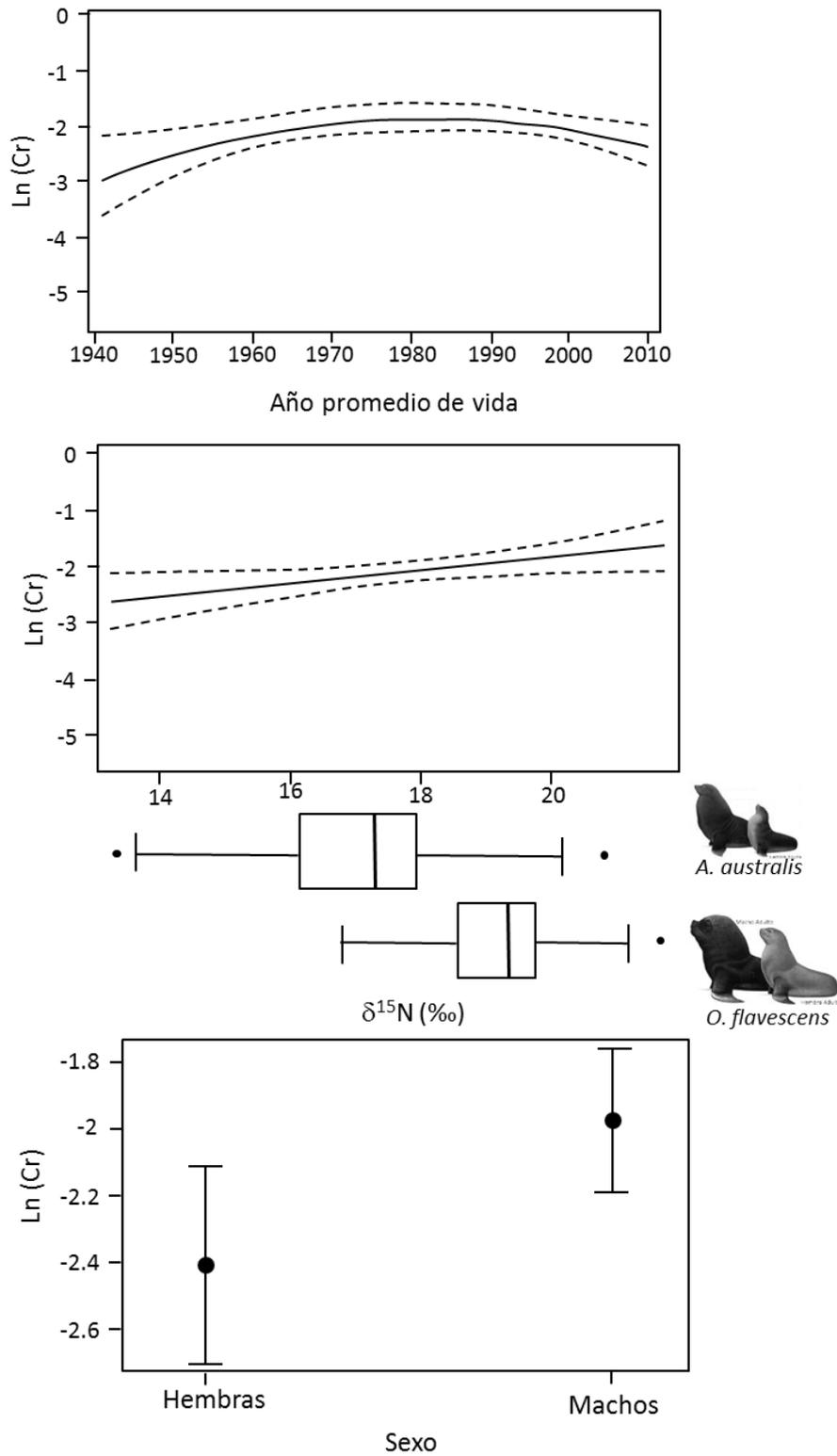


Figura 2. Efectos parciales del año promedio de vida (a), la señal de $\delta^{15}\text{N}$ (b) y sexo (c) en el logaritmo de la concentración de Cr ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens* en la costa uruguaya durante 7 décadas. Se muestra la tendencia media (- y •) y el intervalo de confianza al 95% (- -). Abajo se muestra el $\delta^{15}\text{N}$ para ambas especies de pinnípedos.

Para el Pb, el $\delta^{13}\text{C}$, el $\delta^{15}\text{N}$ y el sexo fueron las variables retenidas como explicativas. Éste elemento presentó una relación lineal con la señal de ambos isótopos e interacción entre el sexo y el $\delta^{15}\text{N}$ (Fig. 3). La ecuación de los efectos parciales del modelo para las hembras fue:

$$\text{Log (Pb)} = - 1,99 + 0,15^{***}(\delta^{15}\text{N}) + 0,12^{**}(\delta^{13}\text{C}) \text{ y para los machos } \text{Log (Pb)} = 0,30^{**} + 0,04^{**}(\delta^{15}\text{N}) + 0,12^{*}(\delta^{13}\text{C})$$

Como se observa en la figura 3 a y b, la concentración de Pb (logarítmica) aumentó linealmente a medida que la señal del isótopo de carbono y nitrógeno aumenta. Para ambos sexos, la concentración de Pb fue mayor para el $\delta^{15}\text{N}$ y el $\delta^{13}\text{C}$ de *O. flavescens* durante todo el período de estudio, ya que el año promedio de vida no fue retenida como variable explicativa. En el caso del nitrógeno, las hembras cuya señal de N es menor, presentaron concentraciones de Pb menores que los machos; dicha señal corresponde generalmente a individuos de *A. australis*. Mientras que en señales mayores de nitrógeno no hay diferencias entre sexos. La devianza explicada por el modelo fue de 41,1%.

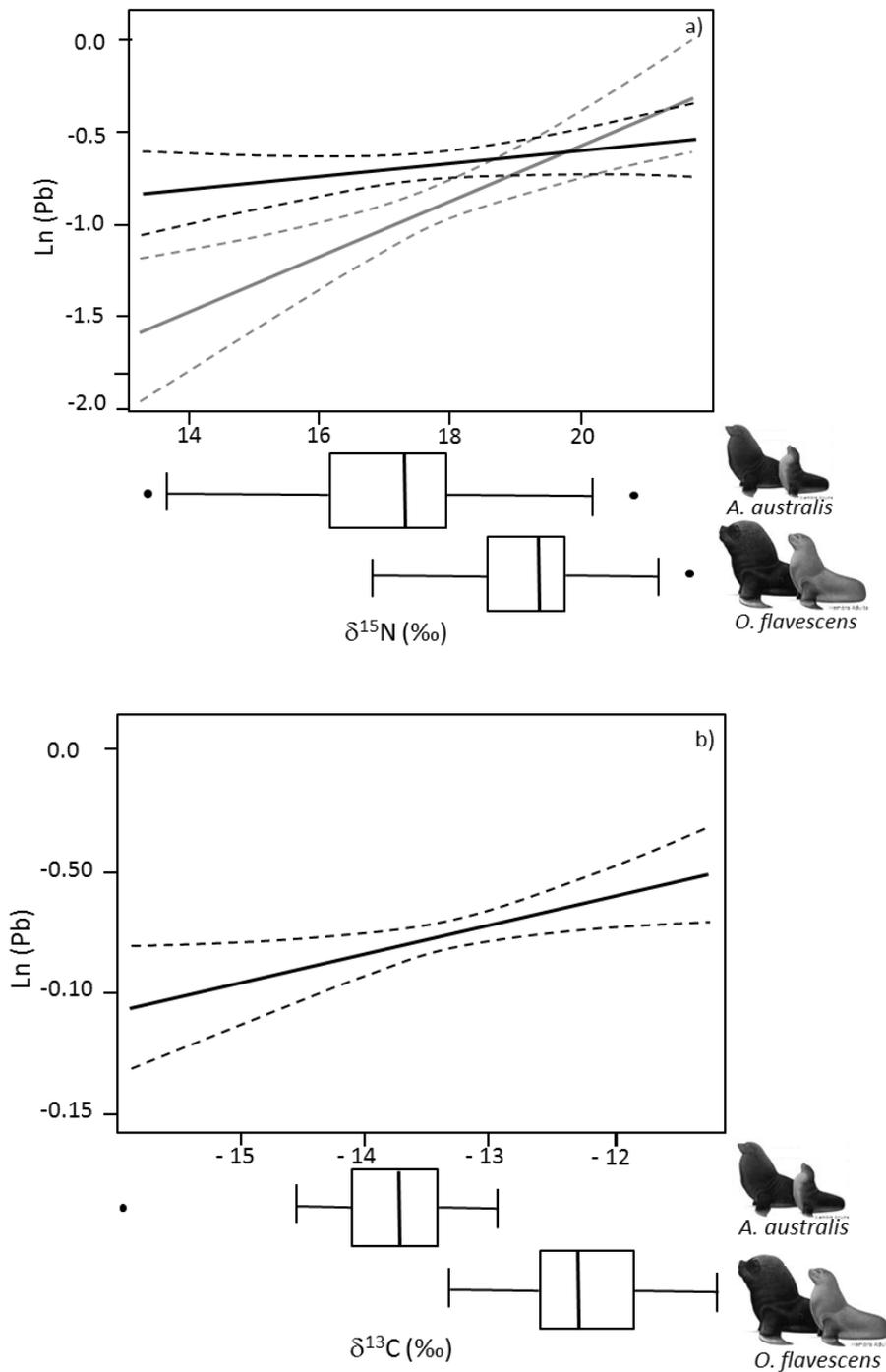


Figura 3. Efectos parciales de la $\delta^{15}\text{N}$ (a) y $\delta^{13}\text{C}$ en ambos sexos (b) en el logaritmo de la concentración de Pb ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens* en la costa uruguaya durante 7 décadas. En gris se representan las hembras y en negro los machos. Se muestra la tendencia media (- y •) y el intervalo de confianza al 95% (- -). Abajo se muestran el $\delta^{15}\text{N}$ (a) y el $\delta^{13}\text{C}$ (c) para cada especie de pinnípedo.

Por su parte, el GLM para el Cd retuvo como variables explicativas el $\delta^{13}\text{C}$ y el sexo. Este elemento presentó un aumento lineal hacia señales de carbono menores (Fig. 4a). A su vez, los machos de ambas especies presentaron concentraciones significativamente mayores ($p < 0,001$) (Fig. 4b). La concentración de Cd fue mayor para $\delta^{13}\text{C}$ correspondientes a *A. australis* durante todo el período de estudio ya que el año promedio de vida no fue retenida como variable explicativa. El modelo del Cd para las hembras fue: $\text{Ln}(\text{Cd}): -12,66^{***} - 0,59^{***}(\delta^{13}\text{C})$ y para los machos: $\text{Ln}(\text{Cd}) = -11,01^{***} - 0,59^{***}(\delta^{13}\text{C})$. La devianza explicada fue de 36%.

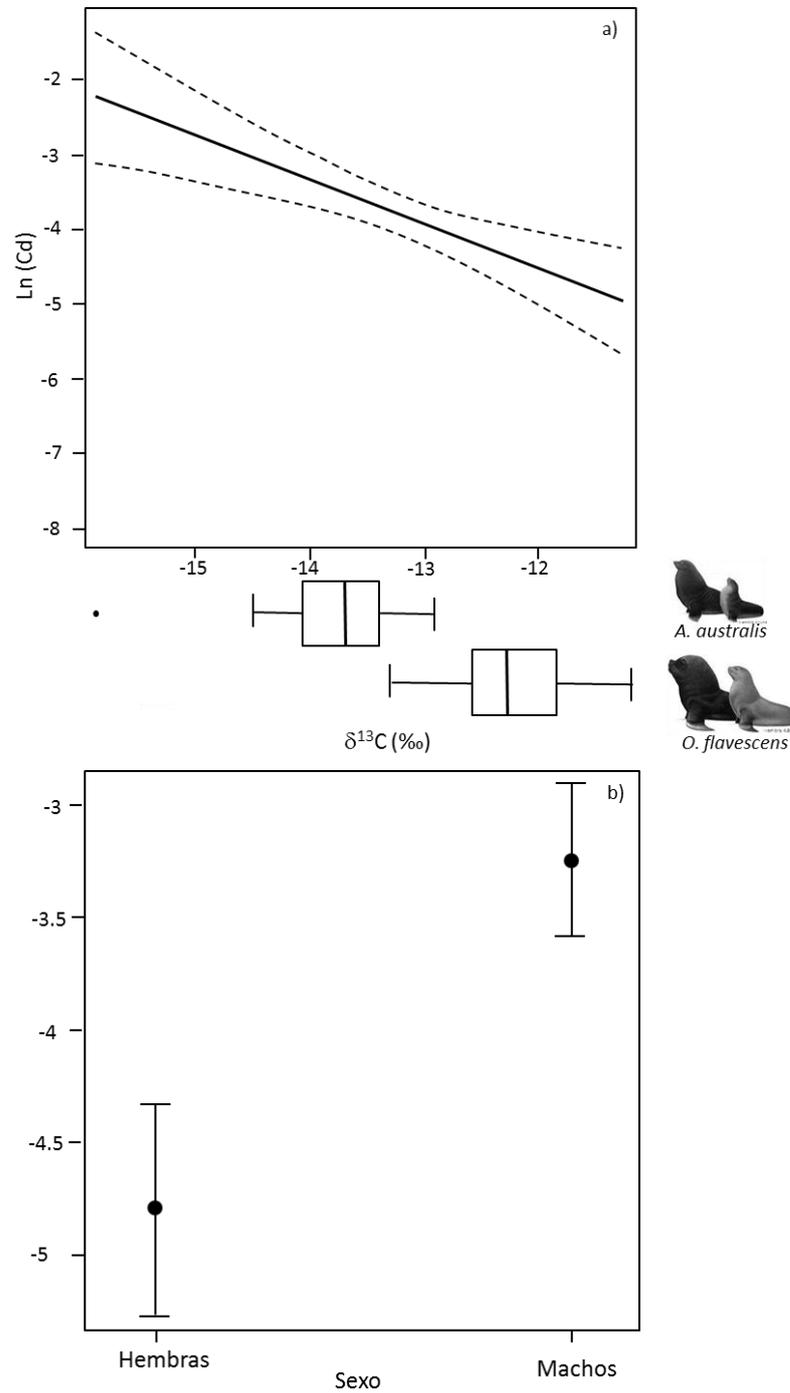


Figura 4. Efectos parciales de la señal de $\delta^{13}\text{C}$ (a) y sexo (b) en el logaritmo de la concentración de Cd ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) de *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens* en la costa uruguaya durante 7 décadas. Se muestra la tendencia media (- y •) y el intervalo de confianza al 95% (- -). Abajo se muestran el $\delta^{13}\text{C}$ para cada especie de pinnípedo.

Discusión

La dentina de ambas especies de pinnípedos presentó niveles detectables todos los elementos traza analizados, excepto el As. Se encontraron concentraciones de algunos elementos trazas altamente conservadas entre especies durante 7 décadas (Tabla 3), mientras que se diferenciaron en algunos pocos elementos, sobre todo en aquellos no esenciales y asociados a diferencias tróficas. En la Tabla 4 se muestra la concentración de cada elemento traza en matrices calcificadas. Además se muestran los valores detectados en *O. flavescens* y *A. australis* en otros órganos.

A continuación se discuten los resultados de cada uno de los elementos traza.

Hierro

El hierro es un elemento indispensable para el funcionamiento en reacciones redox, el metabolismo energético y como cofactor de diversas enzimas *i.e.* transporte de electrones, síntesis de ADN, es un elemento esencial para crecimiento y supervivencia de los organismos (Dloughy & Outten 2013). Adicionalmente, en la célula debe estar en concentraciones controladas ya que podría causar daño oxidativo a la estructura de la célula, por lo que el mecanismo celular prevé la acumulación de hierro y a su vez mantener concentraciones suficientes para satisfacer las demandas metabólicas de Fe (Ponka *et al.* 2015). Particularmente en las matrices calcificadas es común la presencia de impurezas o iones sustituidos en los cristales blancos de hidroxiapatita (Reynard & Blater 2014), el ion más común es Fe y le da cierta coloración a los cristales (Dorozhkin 2007).

El Fe fue el elemento traza más abundante en ambas especies (Tabla 3). Esto concuerda con trabajos anteriores en dientes u otros tejidos calcificados de mamíferos marinos ya sea expresado en concentraciones absolutas (Honda *et al.* 1986, Yamamoto *et al.* 1987, Fujise *et al.* 1988, Edmonds *et al.* 1997) o relativas (Ando *et al.* 2005). En dientes caninos de foca de Weddell (*Leptonychotes weddellii*) el Fe fue el elemento más abundante aunque la concentración hallada en el presente trabajo fue muy superior (Yamamoto *et al.* 1987) (Tabla 4). En colmillos de dugong (*Dugong dugon*) en Australia, la concentración media de Fe fue de 6,4 mg.g⁻¹ (Edmonds *et al.* 1997), siendo muy similar a la encontrada en ambas especies de pinnípedos en la costa uruguaya. En lo que respecta a estudios

en hueso, el león marino de California, este elemento fue uno de los presentes en mayor abundancia pero la concentración hallada fue muy inferior a la del presente estudio (Szteren & Aurióles-Gamboa 2013) (Tabla 4).

En el presente trabajo, la concentración de éste elemento fue constante a lo largo de la serie histórica entre especies considerando la segregación trófica, sexo, edad de los individuos, siendo la variación entre 4,22 y 5,48 mg.g⁻¹. No se han encontrado antecedentes sobre la concentración Fe en las presas de ambas especies de pinnípedos, si hay registros en los sedimentos de la costa uruguaya cuyas concentraciones varían entre 2 y 12 mg.g⁻¹ (García-Alonso datos no publicados).

En lo que respecta a la edad, en el presente trabajo no se encontró una relación con ésta variable. Mientras que en hueso, otra matriz calcificada, Honda *et al.* (1986) encontraron un aumento en la concentración de Fe en hueso con la edad en delfín listado (*Stenella coeruleoalba*). Adicionalmente encontraron la misma tendencia en suero sanguíneo, asociándolo al rol de almacenamiento de los huesos en el almacenamiento de Fe. La ausencia de relación en las especies estudiadas pudo deberse a la matriz seleccionada: si bien el diente es una matriz calcificada y en muchos casos sufre procesos similares al hueso (Levine 2011), no participaría en el metabolismo del Fe a diferencia del hueso. Esta función diferencial entre matrices calcificadas podría ser la en parte la razón de no encontrar patrones similares con la edad de los individuos, sino también explicar las diferencias en las concentraciones encontradas entre especies de mamíferos marinos (Tabla 4).

En otras matrices que no intervienen en el metabolismo del Fe tampoco se encontró una asociación con la edad de los individuos. Un estudio realizados en marsopa (*Phocoena phocoena*) no encontró una asociación con la señal de carbono y nitrógeno en las matrices analizadas (hígado, riñón y en músculo) (Das *et al.* 2004). Tampoco se encontró asociación de este elemento en pelo en relación a la posición trófica en el león marino de California (Elorriaga-Verplancken & Aurióles-Gamboa 2008). A pesar de tratarse de matrices diferentes, que dan cuenta a procesos que pueden ocurrir a distintas escalas, los resultados del presente trabajo concuerdan con los antecedentes. Habran *et al.* 2012 proponen que la concentración fue similar en los distintos tejidos analizados de madres y crías de foca gris, debido al rol metabólico de éste elemento. Puede ocurrir que la presencia de Fe en la dentina se

deba a procesos fisiológicos en las células odontoblásticas presentes en los túbulos de la dentina (Piesco 1994). Células altamente especializadas, encargadas de las síntesis y maduración de dentina (Tjäderhane *et al.* 2012). Podría ser la razón de haber encontrado en el presente trabajo concentraciones constantes en el tiempo en dos especies de pinnípedos con hábitos tróficos distintos, sin importar el sexo o la edad.

Zinc

El Zn es un metal requerido en la célula para la proliferación y diferenciación celular, especialmente para la regulación de la síntesis de ADN y mitosis (Walsh *et al.* 1994). Las metalotioneinas (MTs) son las proteínas encargadas de controlar intracelularmente el metabolismo de los metales traza incluyendo al Zn (Izumi *et al.* 2007). El Zn es un elemento que juega un rol fundamental en el metabolismo y formación de tejidos mineralizados (Brandao-Neto *et al.* 1995). En huesos de humanos se encuentra aproximadamente el 30% de todo el Zn contenido en el cuerpo, la mayor concentración de este elemento ocurre en los músculos (60%) (OMS 1996a). A pesar de su bajo contenido en Zn, la reserva en el esqueleto es la mediadora entre la captación y liberación de este elemento (Windisch 2001). El Zn (II) es comúnmente incorporado en la estructura de la hidroxiapatita (Matsunaga *et al.* 2010). Este elemento puede intercambiarse con el calcio tanto en la hidroxiapatita como en el esmalte del diente, aunque no se conoce el mecanismo por el cual ocurre (Jenkins 1983). La carencia de Zn produce consecuencias para la salud, mientras que la intoxicación es rara, siendo los alimentos de origen marino y los granos los que tienen mayor contenido de este elemento (Goyer & Clarkson 1996).

Incluso los dientes han sido considerados como indicadores de la exposición ambiental al Zn (Tvinnereim *et al.* 1999). En ambientes acuáticos llega directamente como consecuencia de procesos de combustión e industriales como fundiciones de metales, galvanizado y por actividades mineras (Bjerregaard *et al.* 2015). Como consecuencia, los niveles de Zn son mayores en áreas industrializadas (Poletto *et al.* 2009). En humanos, luego de un período notorio de industrialización y urbanización, la concentración media de Zn fue de $144 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, levemente superior a la encontrada 30 años antes (Tvinnereim *et al.* 1999), aunque las principales

diferencias encontradas en humanos y entre poblaciones se estima se deben a diferencias en el aporte de este elemento principalmente en la dieta y no a contaminación (Webb *et al.* 2005).

En la dentina de ambas especies de pinnípedos estudiadas, el Zn se presentó como el segundo elemento más abundante, siendo similares los valores a los reportados en matrices calcificadas en el león de California y la foca de puerto (*Phoca vitulina*) (Agusa *et al.* 2011, Szteren & Auriol-Gamboa 2013). Adicionalmente, para la foca de Wedell se analizó la concentración de Zn en hueso como en diente, la concentración en ambas matrices fueron muy similares entre y a las del presente trabajo (Tabla 4) (Yamamoto *et al.* 1987).

En la marsopa de Dall (*Phocoenoides dalli*) el 57% del Zn almacenado en los tejidos se encontró en hueso, siendo en este caso las concentraciones de Zn mayores a las de Fe y mayores a las encontradas en la presente tesis (Fujise *et al.* 1988). Resultados coincidentes con respecto a la concentración de se obtuvieron para el delfín listado (Honda *et al.* 1986) (Tabla 4). En hueso del león marino de California y de foca de puerto se encontraron concentraciones notoriamente menores (Agusa *et al.* 2011, Szteren & Auriol-Gamboa 2013) (Tabla 4). En restos óseos humanos pertenecientes a distintos momentos históricos, la concentración varió entre 60 y 310 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a lo que los autores sugieren que esta variación tan estrecha se debe al estricto control metabólico que presenta este elemento y no a un efecto de la contaminación del ambiente (Shafer *et al.* 2008). Por lo antedicho, podrían considerarse similares las concentraciones entre tejidos y deberse a un requerimiento diferencial entre matrices calcificadas y entre especies.

En lo que refiere a la concentración de Zn en otros tejidos de mamíferos marinos, los valores difieren y en muchos casos no se encontró asociación en relación a las zonas de alimentación, ni con la posición trófica (isótopos estables). En diversos mamíferos marinos la concentración en tejidos blandos sería mayor en hígado, luego riñón y músculo (Das *et al.* 2003 a y b, Dehn *et al.* 2006b). Las concentraciones en hígado rondan los 100 -200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, mientras que en riñón son cercanas a los 50-100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Das *et al.* 2003, Ciesielski *et al.* 2006). Estudios en el ártico encontraron este mismo patrón, pero con concentraciones menores en ambos tejidos (Dehn *et al.* 2006b). Al igual que en esta tesis, no se encontraron

asociaciones con la dieta a través de isotopos estables en delfín listado, delfín común (*Delphinus delphis*), delfín del Pacífico (*Lagenorhynchus acutus*), la marsopa común (*Phocoena phocoena*), delfín de hocico blanco (*Lagenorhynchus albirostris*), la foca gris anillada (*Pusa hispida*), la foca barbuda (*Erignathus barbatus*) y la foca manchada (*Phoca largha*) (Das *et al.* 2003, Dehn *et al.* 2006a).

En la ballena de Groenlandia (*Balaena mysticetus*) únicamente se encontró una correlación positiva con $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, mientras que en belugas (*Delphinapterus leucas*) se encontró una correlación negativa del Zn con ambos isótopos (Dhen *et al.* 2006b). Estas asociaciones con los isótopos estables no son discutidas en el trabajo, aunque los autores mencionan que la concentración de Zn puede ser un indicador de la condición corporal, sistema inmune y salud animal, siendo mayores en las ballenas grises varadas muertas que en aquellas obtenidas de la caza de subsistencia.

Si bien los rangos de las concentraciones de Zn en dentina de *A. australis* y *O. flavescens* se presentan constantes y con poca variación (Anexo Fig. 3b), en pelo de cachorros de león marino la concentración media de Zn fue muy variable desde 40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a 398 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Elorriaga-Veplancken & Auriolles-Gamboa 2008). Tal vez la concentración de éste elemento no esté asociado a los hábitos tróficos sino al aporte de Zn que varía a grandes rasgos de acuerdo a la zona y el impacto humano, ya que podrían encontrarse concentraciones menores como ocurrió en el ártico (Dhen *et al.* 2005b). También es posible que la acumulación de Zn en la dentina sea independiente a la exposición ambiental (Webb *et al.* 2005); en el hígado la concentración de Zn no refleja generalmente la encontrada en el agua marina, ya que son elementos con estrictos controles metabólicos y sólo un exceso o una deficiencia importante sería notorio (Ciesielski *et al.* 2006).

Las diferencias observadas al considerar las especies *per se* y no los hábitos tróficos en la concentración de Zn entre *O. flavescens* y *A. australis* (Tabla 3) podrían estar asociadas a la concentración diferencial de Cd entre especies, ya que ambas especies presentan una variación estrecha en la concentración de este elemento y las concentraciones medias difieren. Numerosos trabajos ha reportado correlaciones lineales entre el Cd y el Zn en tejidos de mamíferos marinos: foca gris (Bustamante *et al.* 2004), foca de puerto (Tohyama *et al.* 1986), oso polar, foca anillada

(Woshner *et al.* 2001a), ballena de Groenlandia (Dhen *et al.* 2005b), delfín común, foca arpa y belugas (Lahaye *et al.* 2007, Woshner *et al.* 2001b). La fuerte correlación lineal entre Cd y Zn en el hígado de mamíferos marinos puede ser explicada debido a la similitud en sus propiedades físicas y químicas, por ejemplo el Cd puede desplazar al Zn de su unión a las MTs (Szefer *et al.* 1994).

Ikemoto *et al.* (2004) localizaron ambos metales en el citosol de células hepáticas, sugiriendo que podría deberse a su unión con dichas MTs. En el caso de los odontoblastos de rata, se propone que el Cd es secuestrado en el núcleo en lugar del Zn o el Cu, y las MTs podrían transportarlo fuera del núcleo, detoxificando la célula (Sogawa *et al.* 2001, Das *et al.* 2003). Podría ser por la competencia por los sitios de unión a las MTs entre el Zn y el Cd que *A. australis*, la especie que presenta mayores concentraciones de Cd, presente a su vez mayores concentraciones de Zn en la dentina (Tabla 3). Además, se ha demostrado que la dentina presenta MTs idénticas a las hepáticas (Sogawa *et al.* 2001). Adicionalmente, las concentraciones de Zn halladas en los dientes de *A. australis* fueron muy similares a las reportadas por Yammamoto *et al.* (1987) en focas de Weddell, siendo ambas especies de pinnípedos predadores importantes de cefalópodos vectores de Cd (Franco-Trecu *et al.* 2014, Lake *et al.* 2003, Bustamante *et al.* 1998) (Tabla 4). La posible relación en la acumulación de Zn y Cd y su relación con una dieta rica en calamares, podría confirmarse con mayores estudios sobre la localización específica de Cd y Zn en la dentina, en conjunto con análisis del tejido hepático.

En lo que refiere a una asociación con la edad de los animales, no se encontraron diferencias en la concentración de Zn en ninguna de las dos especies de pinnípedos de la costa uruguaya. Trabajos en mamíferos marinos en diversos tejidos ha mostrado resultados dispares. Estudios en riñón en algunas especies de fócidos y franciscana han reportado un aumento de la concentración de Zn en relación a la edad (Gerpe *et al.* 2002, Bustamante *et al.* 2004, Dehn *et al.* 2005). Mientras que en varias especies de cetáceos no se reportó esta bioacumulación ni en riñón, ni en otros tejidos blandos (Dehn *et al.* 2006b). En lo que respecta a matrices calcificadas, en incisivos de rata no se reporta una asociación con la edad (Fosse & Justesen 1978). Mientras que al analizar cada banda de crecimiento en dientes de morsa (*Odobenus rosmarus*), las concentraciones fueron elevadas principalmente

durante el primer año de vida así como en los últimos (Evans *et al.* 2005). Igualmente en hueso de delfín listado, se reportó una asociación positiva con la edad, incluso dicho elemento sigue el mismo patrón asintótico que el calcio, por lo que se cree está asociado al proceso de osificación (Honda *et al.* 1986). Este elemento muchas veces es asociado con tejido en formación y es necesario durante el período neonatal (Kelleher & Lönnnerdal 2005), por lo que las concentraciones pueden ser mayores en individuos jóvenes o durante el desarrollo fetal (Habran *et al.* 2012). Además pueden ocurrir procesos de bioacumulación de Zn a lo largo de la vida y pueden no detectarse en estudios en base a matrices que engloban toda la vida del individuo, como es el caso de la presente tesis.

Con respecto al tiempo, no se percibieron cambios en ambas especies de pinnípedos a pesar que algunos estudios evidencian que al menos en la bahía de Montevideo la concentración de Zn aumentó desde 1940 hasta la actualidad y luego de 1980 (Burone *et al.* 2011). Es decir, los cambios en las condiciones ambientales en relación al Zn fueron locales en una zona muy antropizada pudiendo no afectar la zona de alimentación de ambas especies. Por otra parte, debido al estricto control metabólico de este elemento puede que no se evidencien dichos cambios en la matriz estudiada o que se requieran un aporte mucho mayor para detectar dichas variaciones (*i.e.* en ambientes altamente contaminados por Zn).

Se encontró Zn en las especies presa de ambas especies de pinnípedos, en mayor concentración en hígado que en músculo siendo notoriamente alto en la brótola ($97\text{-}350\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) y en pescadilla calada (*Cynoscion guatucupa*) (Viana *et al.* 2005). En la corvina las concentraciones fueron menores en ambas matrices (Marcovecchio & Moreno 1993, Viana *et al.* 2005). Tanto la pescadilla calada, como la corvina son presas importantes de ambas especies de pinnípedos (Naya *et al.* 2000 y 2002, Suárez *et al.* 2005, DINARA 2010, Franco-Trecu *et al.* 2013). Los leones marinos consumen frecuentemente brótola en asociación con la pesca artesanal y en algunos casos particularmente se alimentan de las vísceras de las mismas (Szteren y. De María, observación personal), por lo que el aporte de Zn podría ser mayor en momentos particulares de mucha abundancia de ésta presa. Adicionalmente, Viana *et al.* (2005) plantean que a pesar de la alta concentración de Zn encontrada en sedimentos, éstos niveles no se encuentran en los peces estudiados por lo que la biodisponibilidad en el Río de la Plata sería baja, lo que repercutiría en bajas

concentraciones de Zn en ambas especies de pinnípedos además del importante control metabólico de éste elemento.

Aluminio

El Al es el tercer elemento más común en la corteza terrestre (luego del oxígeno y el Sílice) y el metal más abundante que posee diversas aplicaciones en la industria (papelera, transporte, envoltorios y construcción, entre otros) (Martin 2006). Se sugiere que podría tener pocos roles esenciales y uno de ellos sería la compactación de la cromatina (Lukiw 2010). A pesar de ser muy abundante, su biodisponibilidad es baja (Berthon 2002), pero ha aumentado en los últimos tiempos debido a su liberación causada por la lluvia ácida (Martin 2006). Puede ser el causante de demencia, deterioro de los huesos e incluso la muerte en humanos. Se encuentra disponible en el té, polvos de hornear, emulsificantes añadidos al queso procesado, antiácidos y aspirinas (Martin 2006). Aunque los niños de Uganda y del Reino Unido presentaron en sus dientes una concentración muy similares entre sí, no se encuentra asociada al estado nutricional ni al estado de salud (Brown *et al.* 2002). La vía principal de entrada de este elemento en mamíferos es a través de la ingesta y su principal sitio de almacenamiento son los huesos, por lo que el aluminio puede incorporarse al hueso por cualquiera de los 3 mecanismos presentados anteriormente (Pirest 1993, 2004). Se cree que en los dientes de pinnípedos ocurría lo mismo.

Pocos trabajos han medido la concentración de este elemento en mamíferos marinos. Únicamente en el león marino de California donde la concentración en hueso fue superior a la del presente trabajo (Tabla 4) (Szteren & Auriol-Gamboa 2013). En hígado de crías de león marino de Steller (*Eumetopias jubatus*), el Al presentó un rango de 16-35 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (peso húmedo) y sólo fue encontrado en 2 crías (Sydeman & Jarman 1998). Posteriormente, Holmes *et al.* (2008) analizaron este elemento en la misma especie y en diversos tejidos de cachorros y el rango de concentración encontrado en hígado fue de mucho menor (1,03- 4,98 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco).

En Puerto Madryn (Argentina) se encuentra una de las mayores fábricas de aluminio de Sudamérica instalada en la década del 70' (Marcovecchio *et al.* 1994,

Ministerio de Relaciones Exteriores, Internacional y Culto 2010). Debido a esto, el Al fue encontrado en concentraciones superiores en algas de la zona eulitoral cercanas a la fábrica y en relación las mismas algas tomadas más hacia el sur del país (Muse *et al.* 1995).

No se han encontrado trabajos que analicen la concentración de éste elemento en las especies presa de peces ni calamares de *O. flavescens* y *A. australis*. Los pinnípedos juveniles y los machos subadultos son los que generalmente se desplazan mayores distancias, mientras que los adultos se mantienen cercanos a la colonia reproductiva (Raum-Suryan & Pitcher 2002, Grandi *et al.* 2008). Las hembras adultas de ambas especies marcadas satelitalmente de *O. flavescens* y de *A. australis* de nuestra costa no llegarían al área de la Patagonia argentina (Franco-Trecu datos no publicados, Rodríguez *et al.* 2013 y Riet-Sapriza *et al.* 2013), mientras que los machos adultos de *O. flavescens* realizarían viajes de 400-800 km (Giardino *et al.* 2014). Adicionalmente, juveniles marcados de *A. australis* se han encontrado a 1000 km de la Isla de Lobos donde nacieron (Crespo *et al.* 2015) y los isotopos muestran que los juveniles de *O. flavescens* utilizan un área de alimentación mucho más amplia que los adultos (Zenteno *et al.* 2013). Sería durante los primeros años de vida, luego del destete, cuando podrían incorporar mayores concentraciones de Al a través de la alimentación en dicha área.

Los resultados de éste trabajo mostraron que la concentración de este elemento fue no estuvo asociada a los hábitos tróficos, ni a la edad de los individuos. Esto podría deberse a que el diente es una matriz integradora de toda la vida del individuo, por lo que los primeros años de vida están enmascarados junto con las capas de crecimiento de adultos y con la alimentación cercana a la colonia. En caso de que sea de interés detectar el posible aporte de Al en los juveniles, podrían realizarse estudios ontogenético con una mejor representación de todas las edades. Además de analizarse la transferencia de éste elemento a través de las presas, ya que en el presente trabajo no se encontró una variación durante siete décadas y por lo tanto tampoco se refleja la explotación de este elemento a partir de la década del 70 en ninguna de las dos especies de pinnípedos.

Niquel

El Ni es un contaminante industrial común, que se encuentra en mayores concentraciones cerca de parques industriales. Es liberado durante la quema de combustibles fósiles, las minerías y refinerías, así como la incineración de residuos municipales, siendo éstas las principales fuentes antropogénicas (OMS 1996b). También hay deposición de Ni debido a meteoritos y erupciones volcánicas, (Reimann & De Caritat 2005), pero aún no ha sido documentado un impacto en la salud de dichas emisiones (OMS 1996a).

En humanos y otros vertebrados no se ha descrito una función fisiológica y no se ha establecido los requerimientos nutricionales de éste elemento (OMS 1996a). La esencialidad está bajo debate ya que bajos niveles de niquel interfieren en el metabolismo de lípidos en ratas (Stang & Kinrchgessner 1996). Para poder cumplir las demandas celulares de Ni, los modelos celulares deben ser capaces de acumularlo en ciertos niveles, aunque en caso de exceso puede ser tóxico ya que puede reemplazar al Fe y Zn en las enzimas e inducir indirectamente la activación del estrés oxidativo (Macomber & Hausinger 2011).

En mamíferos, éste elemento está presente en la dieta pero se considera que es poco absorbido y relativamente no-tóxico (Law *et al.* 1992). Los estudios de este elemento en mamíferos marinos son escasos. El Ni al igual que el Zn y el Pb, se encuentran en mayores concentraciones en tejidos duros (Fujise *et al.* 1988). En la marsopa de Dall, la concentración media en hueso de individuos adultos fue de 0,22 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo (Fujise *et al.* 1988) (Tabla 4), siendo menor a la del presente trabajo. Honda *et al.* (1986) reportaron diferentes concentraciones de éste elemento en hueso de machos y hembras de delfín listado $0.16\pm 0.04 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y $0,08\pm 0,05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco respectivamente, siendo también menores a las halladas en el presente estudio. Estos autores asociaron las menores concentraciones en las hembras con posible transferencia de Ni durante la gestación y la lactancia. Las menores concentraciones halladas en hueso con respecto a las halladas en diente en el presente trabajo, se pueden deber a la baja tasa de remodelación del diente (Jones 2001) ya que puede que el Ni una vez almacenado en la dentina no sea removido. Por ésta razón, puede ser que no se hayan encontrado diferencias en las concentraciones entre sexos. Además, debido a características propias de la dentina,

ésta puede presentar concentraciones mayores de Ni que el hueso a pesar de ser una matriz calcificada. Las concentraciones registradas en el presente estudio fueron similares a las encontradas por Nowak & Chmielnicka (2000) en dientes humanos, que habitan en Polonia en un área de bajo impacto antropogénico ($4.9 \pm 1.9 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), sin encontrar diferencias entre sexos. Otros estudios en humanos (Lappalainen & Knuuttila 1982), coincidente con los resultados del presente trabajo tampoco mostraron una asociación de este elemento en relación con la edad, aunque las concentraciones encontradas fueron muy superiores a las observadas en lobos y leones marinos de la costa uruguaya

También se estudió la concentración de Ni en otros tejidos de franciscanas de Argentina (Panebianco *et al.* 2012) y en cachalote (*Physeter macrocephalus*) (Holsbeek *et al.* 1999). En el primer estudio, se encontraron mayores concentraciones de Ni en animales colectadas en zonas cercanas a la desembocadura de una cuenca hidrográfica donde se utilizan herbicidas como glifosato (Panebianco *et al.* 2012). El glifosato, es un quelante que favorece la lixiviación de Ni y otros elementos traza del suelo (Barrett & McBride *et al.* 2006). Otro estudio relacionando la exposición a elementos traza y la respuesta inmune encontraron que en 2 casos de focas de puerto sus linfocitos mostraron hipersensibilidad a la exposición a Ni, pudiendo ser una razón causante de enfermedades infecciosas (Kakuschke *et al.* 2005).

Debido a que no se encontró variación en el tiempo, ni según los hábitos tróficos, ni entre los sexos, se hipotetiza que el rango de variación del Ni se debería sobre todo a características inherentes al tejido más que a un efecto ambiental.

Manganeso

El Mn se utiliza en la producción de acero, latas de aluminio, funguicidas, fertilizantes y electrónicos. El uso industrial de este elemento ha aumentado en los últimos años en las aleaciones con hierro durante el soldado (Crossgrove & Zheng 2004) y la exposición ambiental se debe al uso de pesticidas órgano-metálicos (Tokar *et al.* 2015). Aproximadamente un 25% del Mn del cuerpo se encuentra en el esqueleto (Underwood 1977), incluso en mamíferos marinos una gran proporción

de éste elemento se encuentra en este tejido (Yamamoto *et al.* 1987, Agusa *et al.* 2011).

El Mn es un metal esencial, necesario para el procesamiento del colágeno de las matrices calcificadas (Saltman & Straus 1987, Levine 2011), funciones inmunes, regulación del metabolismo energético celular y digestión, ente otras (Roth *et al.* 2013). Su deficiencia produce problemas de crecimiento y un funcionamiento reproductivo anormal (Underwood 1977, Santamaria & Sulsky 2010). La mayor parte del Mn se encuentra en los huesos, donde no es movilizable (Underwood 1977, Agusa *et al.* 2011). Es un elemento ubicuo en las hidroxiapatitas naturales sustituyendo al calcio (Pan & Fleet 2002). También se encuentra en tejidos ricos en mitocondrias como páncreas, hígado e intestinos (Goyer & Clarkson 2001). Se cree que éste elemento posee un mecanismo de homeostasis muy importante, por lo que sus niveles se mantienen constantes aunque el rango de concentración en la ingesta sea muy variable (Finley *et al.* 2003)

El rango de concentración encontrado en ambas especies de pinnípedos es similar al descrito en huesos para individuos adultos de otras especies de mamíferos marinos y es un elemento que se presentó en concentraciones bastante altas en ésta matriz calcificada (Tabla 3). Por ejemplo, en marsopas de Dall y focas de puerto encontraron Mn en mayores concentraciones en hígado que en hueso, aunque el hueso fue uno de los tejidos que presentó mayor concentración entre otros analizados, proponiendo a ésta matriz calcificada para el estudio del Mn (Tabla 4) (Fujise *et al.* 1988, Agusa *et al.* 2011). Por su parte, también encontraron que en fetos, el tejido óseo presentó mayor concentración de Mn que el hígado, e incluso mayores que los adultos, sugiriéndose se debe a su participación en el proceso de osificación. En focas de puerto también se encontraron concentraciones similares de Mn en hueso (Agusa *et al.* 2011). El rango de concentraciones en matrices calcificadas en adultos fue similar a la encontrada en el presente trabajo, tanto Agusa *et al.* (2011) como Honda *et al.* (1986) asociaron éstos patrones a una dilución con el crecimiento. De la misma manera, en hueso de fetos de delfín listado encontraron concentraciones superiores a los adultos (Honda *et al.* 1986). Incluso la concentración de Mn decreció rápidamente durante la lactancia y se mantuvo constante el resto de la vida sin presentar diferencias entre sexos

($0,27 \pm 0,04 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ peso húmedo). Las concentraciones de Mn en distintos huesos acompañó la concentración de calcio, asociándolo con el proceso de osificación (Yamamoto *et al.* 1987). En el presente trabajo no se encontró un patrón claro de asociación de la concentración de Mn con la edad de los individuos. Esto probablemente se deba a que se muestrearon principalmente individuos adultos y se evitó muestrear la capa fetal la cual podría haber influenciado en las concentraciones de Mn.

El trabajo de Yamamoto *et al.* (1987) es uno de los pocos que analizaron la concentración absoluta en dientes, siendo ésta mayor a la del presente trabajo ($1,35 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Tabla 4). Cabe destacar que se trataban de únicamente 2 individuos de foca de Weddell y la concentración fue determinada utilizando el diente entero (dentina y esmalte). Outridge & Stewart (1999) también analizaron la concentración en dientes de morsas, siendo los valores encontrados muy similares espacio-temporalmente ($0,36 - 1,23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco). La similitud en la concentración de Mn entre especies en dientes puede ser una consecuencia de un requerimiento metabólico común, más que a causa de una exposición ambiental.

Adicionalmente, el Mn tampoco se encontró asociado a los hábitos tróficos ni a la posición trófica de ambas especies de pinnípedos. Esto puede deberse también al rol esencial de éste elemento en ambas especies. Podría extenderse el estudio a otras especies de la trama trófica, aunque en el Ártico desde algas a leones marinos tampoco se encontró asociación de este elemento con la señal de nitrógeno (Campbell *et al.* 2005).

En el presente trabajo no se encontraron diferencias entre sexos, mientras que sí fueron detectadas en hígado de foca anillada (Agusa *et al.* 2011), siendo mayor en hembras. También se encontraron variaciones entre sexos en hígado de delfín común durante la década del 90'. En contraste, estas diferencias no se encontraron para ninguno de los tejidos analizados en focas anilladas por Woshner *et al.* (2001a). Las diferencias encontradas entre sexos o en el tiempo en otros órganos podrían reflejar cambios mensuales o anuales (Arai *et al.* 1999, Ando *et al.* 2005), una escala temporal menor a la representada en el diente.

Cobre

El Cu es un elemento esencial aunque potencialmente tóxico. En las células, el Cu es un elemento necesario en muchos procesos de oxidación y reducción, ya que fácilmente dona electrones al oxígeno, por lo que debe estar sujeto a un control estricto debido a su reactividad y si se encuentra libre genera especies reactivas de oxígeno (Vest *et al.* 2013). Además, está involucrado en numerosos procesos biológicos, como parte integral de enzimas de la respiración celular, defensa antioxidante, formación del tejido conjuntivo, síntesis de neurotransmisores, pigmentación y queratinización (Ellingsen *et al.* 2015). La entrada a la célula depende de un transportador específico (CTR1) que es altamente expresado en hígado, páncreas y corazón, y en menor medida en músculo y cerebro (Bertinato & L'Abbé, 2004). El cobre induce la agregación de proteínas y en altos niveles en el cerebro puede causar sinapsis disfuncionales, potenciando en la enfermedad de Alzheimer y Parkinson (Vest *et al.* 2013). La deficiencia de Cu en mamíferos puede inducir a hipertrofias cardíacas, hiper-pigmentación, pérdida de la piel, anemia y acumulación de hierro hepático (Georgopolus *et al.* 2001, Vest *et al.* 2013).

Es uno de los primeros metales, así como el oro, utilizado por la humanidad. Por mucho tiempo el avance de la humanidad estaba reflejado con la capacidad de utilizar este elemento (Georgopolus *et al.* 2001). Puede encontrarse en distintos estados de oxidación 0, +1, +2, and +3. Los mayores reservorios de cobre se encuentran en Chile, aunque también en el mundo se produce cobre de forma “secundaria” mediante el reciclaje de fragmentos de este elemento. Este tipo de producción ha crecido de forma continua y representa el 18% del cobre producido mundialmente (ICSG 2014), siendo Uruguay un exportador de cobre (Uruguay XXI 2016). Según Ellingsen *et al.* (2015), éste elemento se utiliza mayoritariamente para la producción de cables de transmisión eléctrica, también para cañerías, embarcaciones, techados y cercas durante la construcción. Adicionalmente los fertilizantes de fosfato pueden contener cantidades importantes de Cu. La liberación antropogénica de cobre al ambiente se origina de procesos industriales y mineros. También es utilizado como herbicida para impedir floraciones algales, llegando así a los cursos de agua (Bjerregaard *et al.* 2015). Los

volcanes, los incendios forestales y la descomposición de la vegetación son aportes naturales de éste elemento (Georgopoulos *et al.* 2001).

El Cu es un elemento esencial aunque potencialmente tóxico. En las células, el Cu es un elemento necesario en muchos procesos de oxidación y reducción, ya que fácilmente dona electrones al oxígeno, por lo que debe estar sujeto a un control estricto debido a su reactividad y si se encuentra libre genera especies reactivas de oxígeno (Vest *et al.* 2013). Además, está involucrado en numerosos procesos biológicos, como parte integral de enzimas de la respiración celular, defensa antioxidante, formación del tejido conjuntivo, síntesis de neurotransmisores, pigmentación y queratinización (Ellingsen *et al.* 2015). La entrada a la célula depende de un transportador específico (CTR1) que es altamente expresado en hígado, páncreas y corazón, y en menor medida en músculo y cerebro (Bertinato & L'Abbé, 2004). El cobre induce la agregación de proteínas y en altos niveles en el cerebro puede causar sinapsis disfuncionales, potenciando en la enfermedad de Alzheimer y Parkinson (Vest *et al.* 2013). La deficiencia de Cu en mamíferos puede inducir a hipertrofias cardíacas, hiper-pigmentación, pérdida de la piel, anemia y acumulación de hierro hepático (Georgeopolus *et al.* 2001, Vest *et al.* 2013).

Dependiendo de la erosión natural del suelo y los depósitos antropogénicos se encuentran concentraciones mayores de Cu en lagos, ríos y estuarios que en el océano abierto. Por otra parte, los ambientes costeros presentan mayores concentraciones que el océano abierto (Georgopoulos *et al.* 2001). Los valores de Cu en sedimento en la costa uruguaya analizados en 2004, se encontraron particularmente enriquecidos en la Bahía de Montevideo ($135 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) con respecto a los valores anteriormente reportados en 1996 (Muniz *et al.* 2004). Los niveles encontrados permitieron considerar al área como muy contaminada por éste elemento traza (Muniz *et al.* 2004).

En lo que respecta a la concentración de Cu histórica en los sedimentos de la Bahía de Montevideo, se muestra un marcado aumento antes de la década del 40 y otro posterior en la década de los 90 (García-Rodríguez *et al.* 2010). En 2004, los sedimentos fueron catalogados como muy enriquecidos y se considera el área muy contaminada por éste elemento traza (Muniz *et al.* 2004). Posteriormente, Muniz *et al.* (2015) mencionan que en la última década el incremento fue leve. Otro estudio

realizado en el Río de la Plata, reportó concentraciones superiores a los niveles guía estándares canadienses para la calidad ambiental en sedimentos de agua dulce y marina, siendo los valores registrados en la zona de externa del Río de la Plata superiores a los valores causantes de un efecto probable en la biota (Carsen *et al.* 2003).

Los resultados del presente trabajo coinciden con éstas evidencias, ya que los pinnípedos de la costa uruguaya presentaron más concentración de Cu a medida que el $\delta^{13}\text{C}$ aumenta lo que corresponde a señales costeras o bentónicas (Fig. 1). Los individuos de *O. flavescens* utilizan estas áreas de alimentación de forma frecuente y por lo tanto, los que presentaron mayor concentración de Cu durante las últimas 7 décadas. Incluso, algunos individuos de *A. australis* cuya señal promedio de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de su vida indica la utilización de ambientes más costeros, presentan mayores concentraciones de Cu que aquellos de hábitos más pelágicos. Por lo tanto, en ambas especies, los individuos costeros presentan mayor contenido de Cu. Sin embargo, el patrón histórico de los sedimentos no se vio reflejado en ambas especies de pinnípedos. Se encontró un aumento en la concentración de este elemento en tendencias históricas de morsas en Canadá (Outridge *et al.* 1997). Aunque, la ventana temporal en dicho estudio con morsas fue mayor y el aumento se refiere con respecto a restos arqueológicos, siendo la comparación entre períodos pre e industriales.

En los mamíferos marinos es un elemento que se ha estudiado bastante su concentración en varios órganos y que también se ha buscado una asociación con los hábitos y posición trófica a través de estudios con isótopos estables (Evans *et al.* 1995, Outridge *et al.* 1997, Woshner *et al.* 2001, Anan *et al.* 2002, Gerpe *et al.* 2002, Das *et al.* 2004, Ikemoto *et al.* 2004, Dhen *et al.* 2005 y 2006 b, Elorriaga-Verplancken & Auriol-Gamboa 2008 y Panebianco *et al.* 2012). En estos animales la mayor concentración de éste elemento se encuentra en hígado y riñón, mientras que en hueso se encuentra un porcentaje menor (Yammamoto *et al.* 1987, Fujise *et al.* 1988, Agusa *et al.* 2011). Yammamoto *et al.* (1987) realizaron el único trabajo que compara con diente y las concentraciones son similares entre tejidos calcificados en adultos. En hígado y riñón de focas anilladas, de osos polares (*Ursus maritimus*), ballenas de Groenlandia y belugas las concentraciones fueron

mayores a las encontrada en el presente trabajo, siendo coincidente con los datos publicados anteriormente (Woshner et al. 2001 a y b). En lo que respecta a trabajos en las mismas especies, en *A. australis* las concentraciones fueron similares a los valores reportados tradicionalmente en hígado y en músculo (Gerpe et al. 1990 en Marcovecchio et al. 1994). Sin embargo, en *O. flavescens* solo se encontró un trabajo que analiza la concentración de éste elemento, realizado en hígado, músculo y riñón. Las concentraciones reportadas fueron bajas en relación a las reportadas tradicionalmente y por lo tanto similares a las del presente trabajo (Tabla 4), aunque se trabajó únicamente con 3 individuos (Gerpe et al. 2006). De todas formas, se podría profundizar los estudios en ambas especies tanto en hígado como en diente para confirmar los resultados del presente trabajo en relación a los hábitos costeros y analizar las concentraciones entre matrices.

Las diferencias en las concentraciones entre matrices se deben a la potencialidad de la matriz analizada de acumular Cu, ya que los transportadores celulares son mayores en otros tejidos que en matrices calcificadas. Adicionalmente, los trabajos realizados en matrices calcificadas reportan concentraciones menores que las encontradas en esta tesis, sobre todo en comparación con *O. flavescens* (Yammamoto et al. 1987, Honda et al. 1986). En dientes de morsas de Canadá la concentración actual fue similar a las encontradas en *A. australis* aunque expresadas en peso húmedo (Tabla 4) (Outridge et al. 1997). Esto podría deberse a diferencias geográficas y temporales en la biodisponibilidad de éste elemento, aunque no debe descartarse que en la costa uruguaya la contaminación por este elemento sea alta (Muníz et al. 2015) y mayor el aporte en aquellos individuos que son de hábitos costeros de ambas especies.

En cuanto a la asociación del Cu con isótopos estables, en otras especies de mamíferos marinos se han reportado resultados variados dependiendo de la matriz y especie utilizada, además las interpretaciones son escasas. Dhen et al. (2006b) encontraron una correlación positiva entre la concentración de este elemento y de $\delta^{13}\text{C}$ únicamente en hígado de ballenas de Groenlandia confirmando los resultados del presente trabajo, ya que los individuos costeros tuvieron mayor aporte. Sin embargo, no se encontró asociación en la foca barbuda, ni en la manchada en varios tejidos blandos analizados. Tampoco se encontró asociado a la señal de

nitrógeno a través de la trama trófica en el Ártico desde zooplancton a focas y aves marinas, también coincidente con los resultados de ésta tesis (Campbell *et al.* 2005). Por su parte, Elorriaga-Verplancken & Aurióles-Gamboa (2008), encontraron una correlación negativa entre el nivel trófico de los leones marinos de California y la concentración de Cu en pelo de crías, aunque esta correlación no fue significativa con el $\delta^{15}\text{N}$. Leones de colonias distantes presentaron concentraciones similares de Cu, lo que asocian con la posibilidad de compartir el nivel trófico de la especie más abundante más que muchas presas en particular.

En lo que refiere a las presas de ambas especies de pinnípedos, las mayores concentraciones de Cu se encontraron en hígado siendo muy bajas en músculo. Particularmente en hígado de lisa (*Mugil platanus*) la concentración de éste elemento fue muy elevada, notoriamente mayor a la encontrada en la corvina (Viana *et al.* 2005, Corrales *et al.* en prensa). La lisa no es una especie presa de ninguna de las especies de pinnípedos, aunque muy ocasionalmente a *O. flavescens* se lo ve alimentarse de esta especie durante la interacción con la pesca artesanal (De María, datos no publicados). En lo que refiere a otro ítem alimenticio importantes, en la pescadilla calada las concentraciones fueron muy bajas en músculo y menores a $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en hígado. Un aspecto importante a estudiar sería la concentración de este elemento en otras especies presa de *A. australis* y *O. flavescens*, a su vez considerar si el aporte de este elemento es diferencial según si los organismos son procedentes de pesquerías costeras o pelágicas de forma tal de considerar la posible variación de la concentración de Cu entre peces de distintos ambientes.

En el presente trabajo se encontraron concentraciones de Cu menores en hembras de *A. australis* que se alimentan en la misma zona que machos, mientras que esto no ocurrió en *O. flavescens* (Fig. 1). En el caso de *A. australis*, la edad de los ejemplares es muy similar entre sexos, pero únicamente para los machos se muestrearon individuos muy jóvenes (2 y 3 años), por lo que podría aumentar la concentración de Cu en la dentina; algunos trabajos muestran que en matrices calcificadas la concentración de Cu es alta en los primeros años de vida (Evans *et al.* 1995 y Honda *et al.* 1986). El Cu es un elemento encontrado generalmente en tejidos jóvenes o en formación ya que es un co-factor de la Lisil oxidasa, una

enzima encargada de la síntesis de tejido conectivo y del desarrollo de los dientes (Gerogeopolus *et al.* 2001). En dientes jóvenes o inmaduros la capacidad de respuesta de la pulpa y de reparación de la dentina es mayor, así como el potencial de curación, ya que la pulpa es altamente celular con un ápice radicular muy abierto y un importante suministro de sangre, a diferencia de un diente de mayor edad con un foramen reducido y poca irrigación (Luukko *et al.* 2014). Watanabe *et al.* (1998) encontraron que la concentración de éste elemento en varios tejidos blandos en focas Baikalas (*Pusa sibirica*) era mayor cuanto más joven era el individuo y esta diferencia era aún más pronunciada en individuos inmaduros. Sin embargo, en franciscanas del Río de la Plata se encontró una mayor concentración en adultos, seguidos de juveniles y luego fetos, lo que los autores sugieren una posible acumulación con la edad (Gerpe *et al.* 2002). No obstante, en un estudio posterior en franciscanas, también en la costa argentina y realizado en hígado, no se encontró una asociación con la edad ni con el sexo (Panebianco *et al.* 2012). Sería de interés analizar en un futuro la concentración de Cu durante la ontogenia de mamíferos marinos a través del análisis de éste elemento en cada capa de crecimiento de la dentina. Por otra parte, Franco- Trecu *et al.* (2014) plantean comportamientos de forrajeo distinto entre las hembras de *A. australis* y *O. flavescens*. Según estos antecedentes, las hembras de *A. australis* serían de hábitos más pelágicos que los machos, mientras que las de *O. flavescens* se alimentarían en áreas más costeras que los machos de su misma especie. Podría ocurrir que las hembras de *A. australis* posean hábitos más pelágicos en ciertos momentos de su vida que los machos y por lo tanto recibieran menos aporte de Cu, resultando en una señal promedio de $\delta^{13}\text{C}$ similar y concentración de Cu menores. Sería posible si al incluir ciertas presas pelágicas el aporte de Cu disminuye notoriamente en relación al cambio experimentado en la señal de C.

Con respecto a la transferencia transplacentaria en mamíferos marinos se han planteado posturas contrarias. Habran *et al.* (2012) encontraron en foca gris concentraciones muy similares en la sangre de crías y madres por lo que creen que las necesidades de este elemento, se cubren durante lo acumulado en el desarrollo fetal. Sin embargo, otros autores hacen referencia al Cu como un elemento que rara vez cruza la barrera transplacentaria (Dhen *et al.* 2005). La transferencia transplacentaria desde las madres podría dar cuenta a las diferencias entre sexos.

Selenio

La concentración en suelos y cuerpos de agua de Se varía ampliamente, siendo mayor en zonas con alta actividad volcánica (Alexander 2015, Bjerregaard *et al.* 2015). El Se es emitido al ambiente por la quema de combustibles fósiles (Bjerregaard *et al.* 2015). Hasta la década del 50 se creía que la única relevancia fisiológica de Se era su toxicidad potencial, hasta que se descubrió su rol anti necrosis y su capacidad de contrarrestar los efectos de metales tóxicos (Ridlington & Whanger 1981, OMS 1996a). Tiene propiedades antioxidativas, su rol como cofactor del sistema gultación peroxidasa elimina radicales libres y reactivos intermedios del oxígeno, además de afectar la desmetilación del Hg, que de ésta forma queda atrapado en la célula (O'Hara *et al.* 2003). En concentraciones elevadas en humanos resulta en selenosis, caracterizada por la pérdida de pelo y brillo en este, problemas gastrointestinales y en el sistema nervioso (Goldhaber *et al.* 2003). Es un elemento requerido en la dieta de las personas y su contenido es alto en las proteínas animales especialmente en peces y crustáceos (Thiry *et al.* 2012). Además en los animales que normalmente ingieren Se, el Hg sería menos tóxico o menos biodisponible. En este sentido, se ha sugerido que los peces que presentan alta concentración de Se puede ser debido a su rol protector contra la toxicidad del Hg orgánico (Dietz *et al.* 2000). Cuando el Se se encuentra unido a metales formando compuestos insolubles es incapaz de unirse a otros compuestos (Thiry *et al.* 2012), mientras que el Se incorporado en los tejidos animales es altamente transferible (Medinsky *et al.* 1981).

Se registraron muy altas concentraciones de este elemento en riñón e hígado de mamíferos marinos, incluso en niveles que serían indicativos de toxicosis en ganado (Woshner *et al.* 2001a, b). La concentración de Se en roedores fue hasta 2 órdenes de magnitud superior en hígado y riñón, a la encontrada en dientes (Shearer 1975). Coincidente con este resultado, los niveles en estos órganos reportados en otros trabajos de mamíferos marinos han sido notoriamente superiores a los encontrados en el presente trabajo (Dietz *et al.* 1996, Woshner *et al.* 2001a, b). En algunos casos parecería ser más importante la concentración relativa de este elemento con respecto a otros metales que la concentración absoluta (Das *et al.* 2003b, Dietz *et al.* 2000, Campbell *et al.* 2005).

En cuanto a la concentración de Se en mamíferos marinos, un estudio realizado en hueso de delfín listado fue aproximadamente de $0.75 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Honda *et al.* 1986) (Tabla 4). En el cemento de dientes de belugas la concentración fue un poco menor a la del presente trabajo y presentó una asociación lineal con la concentración en hígado y músculo, siendo un buen predictor de la concentración en dichos tejidos analizados más comúnmente (Tabla 4) (Kinghorn *et al.* 2008). En dientes humanos, el Se sería un constituyente normal, donde la concentración en dentina fue de $0,52 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Hadjimarkos & Bonhost 1959), siendo superior durante el período de desarrollo del diente (Shearer 1975). El Se en la dentina se encuentra en su gran mayoría unido a proteínas y en una proporción muy menor como parte de los cristales de hidroxiapatita (Shearer 1975). De hecho, Kinghorn *et al.* (2008) proponen que la concentración de Se en el diente podría ser el resultado de un exceso de este elemento más allá de las necesidades fisiológicas.

En dientes se encontró un único trabajo que reporta un aumento en la concentración de Se con la edad de los individuos (Kinghorn *et al.* 2008), contrastando con los resultados del presente trabajo. Por otra parte, la asociación positiva del Se con la edad ha sido muy reportada en otras matrices en cetáceos y pinnípedos (Brookens *et al.* 2007, Bustamante *et al.* 2004, Ronald *et al.* 1984, Woshner *et al.* 2001b, Ikemoto *et al.* 2004). Aunque los autores no discuten más que la posible consecuencia de la acumulación de Hg con la edad y como mecanismo de detoxificación, algunos mencionan una posible asociación con el Cd y Ag (Woshner *et al.* 2001 a y b, Kinghorn *et al.* 2008).

Por otro lado, el Se puede evitar también los efectos tóxicos del Cd (Goyer *et al.* 1996), el patrón general sería formar complejos insolubles y reducir la toxicidad del Cd, sin ser una protección mediada por proteínas (Ridlington & Whanger 1981, Zeisler *et al.* 1993). En éste sentido, se han encontrado correlaciones positivas entre Cd y Se en focas arpa (Ronald *et al.* 1984), ballenas de Groenlandia (Woshner *et al.* 2001b), delfines comunes, osos polares, franciscanas y otras especies de Odontocetos (Lahaye *et al.* 2007, Woshner *et al.* 2001 a, Seixas *et al.* 2007). En trabajos futuros podría buscarse si esta asociación se produce en el diente y la posible formación consecuente de complejos Hg, como con Cd. Sería de interés analizar la acumulación conjunta de elementos en matrices calcificadas, analizando el patrón de acumulación de Se y Cd inclusive en diente.

Los resultados del presente trabajo, coinciden con estudios anteriores donde la concentración de Se no presentó diferencias entre sexos, ni asociación a los hábitos y posición trófica. Tampoco se encontraron diferencias entre sexos en varias especies de focas, ni en osos polares (Bustamante *et al.* 2004, Woshner *et al.* 2001a, Ikemoto *et al.* 2004). Sin embargo, existiría una alta transferencia de Se a través de la leche materna en focas y delfines, siendo notorio el aumento de la concentración de este elemento en los primeros meses de vida (Ronald *et al.* 1984, Honda *et al.* 1986, Habran *et al.* 2012). En consecuencia, las hembras deberían compensar la transferencia a sus crías a través de la dieta, debido al rol metabólico del Se y aporte desde la dieta (Thiry *et al.* 2012).

En el presente estudio, la concentración de Se fue constante entre especies en relación a los hábitos y posición trófica, coincidente con resultados realizados en otras especies, como marsopa común, belugas y ballenas de Groenlandia (Das *et al.* 2004, Dehn *et al.* 2006b). En la costa uruguaya la concentración de Se, también podría no estar asociado a niveles más amplios en la trama trófica como ocurrió en el Ártico (Campbell *et al.* 2005).

Al igual que la mayoría de los elementos analizados en el presente trabajo, la concentración de Se se mantuvo estable a lo largo de 70 años en ambas especies de pinnípedos. Lamentablemente, no se cuentan con estudios que den cuenta de la variabilidad espacio-temporal de Se en la costa donde habitan ambas especies de pinnípedos, ni sus presas. Debido a la poca variación encontrada en ambas especies de pinnípedos en función de los principales factores que regulan la acumulación de elementos traza, es muy probable que la concentración de Se encontrada en la dentina sea consecuencia de procesos metabólicos actuando en ambas especies por igual.

Cromo

El Cr es un elemento ampliamente utilizado en la industria como mordante para los textiles, fabricación de pigmentos, para el curtido del cuero ya que tiene alta afinidad por el colágeno (Covington *et al.* 2001, Brown & Taylor 2003). Adicionalmente se utiliza en metalúrgicas, como catalizadores, para preservar la madera, entre otros. Debido a evidencias recientes el Cr no puede ser considerado

un elemento esencial, ya que no hay datos suficientes sobre la deficiencia del mismo, ni sobre la mejora de ciertos síntomas con su suplementación (Vincent 2013). El Cr trivalente se asocia con el mantenimiento del metabolismo de la glucosa y los efectos adversos de altas concentraciones de este elemento son raros (Goldhaber 2003). Sin embargo, el Cr hexavalente es tóxico y sus compuestos son irritantes y corrosivos, fácilmente asimilados por el tracto digestivo (Baruthio 1992, Law *et al.* 1992). El Cr (VI) es un contaminante persistente en muchos cursos de agua (Zhitkovich 2011). Desafortunadamente en el presente trabajo, ni en trabajos anteriores, se discrimina las concentraciones relativas a cada especie química.

La dentina sería una buena matriz para evaluar el aporte del Cr a través de la dieta ya que se une al colágeno dental, proteína principal de la dentina, siendo ésta la razón por lo que está presente en los dientes de pinnípedos de la costa uruguaya. Este elemento es el principal efluente de las curtiembres y en Uruguay un gran número de éstas se encuentran en el arroyo Pantanoso que desemboca en la Bahía de Montevideo (Muníz *et al.* 2004, IM 2013). En los sedimentos de la bahía la concentración aumenta desde 1940 y aproximadamente en la década de 1970 o 1980 se registra otro aumento en la concentración de Cr (García- Rodríguez *et al.* 2010, Burone *et al.* 2011). El aumento en Cr se asocia a la instalación de las curtiembres sustituyendo los saladeros a comienzos del siglo XX (Burone *et al.* 2011). En la década de los 90 se produce un nuevo aumento del Cr en los sedimentos, seguido de una notable disminución en los últimos 10 años (García-Rodríguez *et al.* 2010). Esto se corresponde con el auge de la industria del cuero debido a la política económica hacia la producción de productos para exportación de 1970-1980, seguido de un retroceso en la década del 90' (Instituto Cuesta Duarte 2005). A partir de 1993, el vertido de las curtiembres ha disminuido notoriamente siendo actualmente un 2% de las concentraciones liberadas en la década de los 90 (Raffaele 2012, IM 2013). Cabe destacar que las concentraciones encontradas en 2004 en la Bahía de Montevideo se localizaron entre umbrales que producen efectos en la biota y las que posiblemente los produzcan (Muníz *et al.* 2004). Adicionalmente, Muníz *et al.* (2015) reportaron que las concentraciones a de Cr en sedimento en la actualidad son significativamente menores a las reportadas en 2004. El mayor aporte de Cr en la Bahía de Montevideo se debería a las curtiembres y ha disminuido desde 1990. En lo que refiere al análisis histórico de

ambas especies de pinnípedos, se observó un aumento significativo en el tiempo coincidente con la intensificación de la actividad de las curtiembres (Fig. 2). Cabe destacar que también existen otras curtiembres localizadas en otros cursos de agua que desembocan en la costa uruguaya (*e.g.* en el Arroyo Carrasco) de las cuales no se cuenta con una tendencia histórica de la liberación de Cr, pero se registraron niveles elevados en dicha cuenca que pueden deberse al vertido directo de los efluentes antes de la instalación del colector (Lacerda *et al.* 1998). Muy probablemente hayan seguido las mismas tendencias que las instaladas en el arroyo Pantanoso, debido a las exigencias departamentales, la instalación del colector y las políticas económicas.

En la costa Argentina, Panebianco *et al.* (2012) registraron Cr en el hígado de franciscana y lo plantean como una posible asociación con el aporte antrópico, ya que también es utilizado en las industrias textiles y curtiembres en este país, siendo raro encontrar éste elemento en mamíferos marinos. Estudios en otros mamíferos marinos de otras regiones del mundo muchas veces no detectan Cr en hígado (Zhou *et al.* 2001, Stockin *et al.* 2007) y en los pocos casos detectados fue en machos (Zhou *et al.* 2001). En pinnípedos de la Antártida, éste elemento se encontró en numerosas ocasiones por debajo de los niveles de detección en varias matrices, siendo la concentración máxima de $0,10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en peso seco (Szefer *et al.* 1994). Valores muy similares fueron encontrados en el Ártico en belugas, elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) y focas anilladas (Zeisler *et al.* 1993). Por lo antedicho, los mamíferos marinos del atlántico Sud Occidental pueden presentar un aporte importante de Cr debido al amplio uso en la industria y la dentina se presenta como una excelente matriz para estudios temporales. Podrían realizarse estudios de hipersensibilidad como los realizados en focas de puerto del Mar del Norte que presentaron sensibilidad al Cr, lo que implica que ya han sido expuestas a este contaminante, pudiendo tener consecuencias en la disminución del sistema inmune (Kakuschke *et al.* 2005).

Actualmente, se encontró un único trabajo que también analiza la concentración de Cr en matrices calcificadas, en focas de puerto siendo notoriamente inferiores a las concentraciones del presente trabajo (Agusa *et al.* 2011). Por otra parte, en humanos la concentración de Cr en dentina fue notoriamente superior a las

reportadas en el presente trabajo ($18,3 \pm 6.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Nowak & Kozłowski 1998). Posteriormente se reportaron concentraciones aún mayores en humanos considerados ambientalmente expuestos, siendo de $49,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Nowak & Chimielnicka 2000). Sería importante analizar la concentración de Cr en dientes de las mismas especies de pinnípedos en regiones donde el uso de Cr sea menor a modo de conocer la variabilidad de dicha concentración asociada a la exposición ambiental.

Las diferencias en la concentración de este elemento entre sexos encontrada en la presente tesis en ambas especies de pinnípedos de la costa puede deberse a la transferencia durante la gestación y lactancia. En el presente trabajo, las concentraciones de Cr fueron mayores en machos que en hembras considerando ambas especies en conjunto, por lo que este resultado coincide con trabajos anteriores en otras especies de mamíferos marinos (Zhou *et al.* 2001, Dhen *et al.* 2005 a y b). De manera similar, el Cr presente en el esqueleto en ratas fue menor en las hembras que en los machos (Wallach & Verch 1984). Es un elemento que puede transferirse a través de la placenta en mamíferos marinos, como ocurre en ratas (Danielsson *et al.* 1982), y a través de la leche materna como fue propuesto para la foca gris (Habran *et al.* 2012).

En el presente trabajo se encontró un aumento en la concentración de Cr en relación a la posición trófica de ambas especies (Fig. 2). Debido a que la superposición en la señal de nitrógeno es alta entre ambas especies, no se encontraron diferencias en la concentración de Cr (Tabla 3). Los individuos de mayor posición trófica presentaron concentraciones más altas de Cr. Podría deberse a que presas costeras de ambas especies de pinnípedos presentan mayor señal de N que las pelágicas (Franco-Trecu *et al.* 2012), por lo que podría ser a través de éstas presas el aporte de Cr. También puede ocurrir que los individuos de mayor tamaño corporal, generalmente de *O. flavescens*, podrían acceder a presas de mayor tamaño y de mayor posición trófica (Arim *et al.* 2007, Segura *et al.* 2015). Dichas presas deberían presentar a su vez deberían presentar una mayor concentración de Cr. En lo que refiere al aporte de Cr desde las presas, en peces detritívoros, las concentraciones Cr fueron catalogadas como de alto rango en el Río de la Plata (Colobmo *et al.* 2000). A pesar de que en este trabajo no se estudiaron

específicamente las especies presa de *O. flavescens* y *A. australis*, este elemento estaría alcanzando especies de éste nivel trófico. Adicionalmente, Viana *et al.* (2005) sugieren el estudio de este elemento en peces del Río de la Plata debido al gran uso para el tratamiento del cuero y la posible transferencia a través de la trama trófica. En próximos estudios se podría analizar la concentración de éste elemento en especies presa de *O. flavescens* y *A. australis* en relación a la posición trófica y a la potencial acumulación de Cr a lo largo de la vida de los individuos, de ésta forma peces de la misma especie pero de diferente tamaño corporal podrían transferir distinta concentración de Cr a sus consumidores.

En cuanto a la asociación entre la concentración de Cr y la señal de ambos isótopos estables, no se encontraron trabajos en mamíferos marinos que los asocien. La concentración de Cr no fue medida o no fue detectada en aquellos trabajos que analizan la señal de C y N. Sin embargo, en aves marinas se encontró una asociación positiva entre la concentración de Cr y el nivel trófico de 5 especies de aves presentes en Alaska desde aquellas que se alimentan de invertebrados bentónicos hasta águilas (Burger & Gochfeld 2009). Esta sería una buena aproximación a los resultados del presente (Fig. 2).

Información acerca de la relación de la concentración de Cr con la edad también es escasa debido a que en las matrices analizadas tradicionalmente la concentración de Cr está por debajo de los límites de detección (Zhou *et al.* 2001, Haynes *et al.* 2005, Stockin *et al.* 2007).

Plomo

El Pb es un metal que ocurre naturalmente en la corteza terrestre (Taylor 1964). La contaminación antropogénica con Pb se debe principalmente al uso de combustibles con éste metal. A modo de ejemplo en 1970 las emisiones estimadas superaban 100 veces el ciclado natural de Pb (Bjerregaard *et al.* 2015). En países en vías de desarrollo, la exposición a través de la dieta ha disminuido desde 1970, cuando se eliminó el Pb como aditivo en los combustibles y de las cañerías de agua (Fowler *et al.* 2015). No obstante, en Uruguay y Argentina recién en a finales de los 90 y principio de los 2000 se remodela la refinería de la Teja y se empieza a producir combustibles libres de Pb (ANCAP 2015, MECON 2015). Actualmente el plomo

se utiliza principalmente en baterías de autos, también en industriales, así como pigmento y en municiones (ILZSG 2015). En Uruguay también existe el reciclado de baterías, la fundición de las placas, la disposición final de la escoria de esas fundiciones fueron las causas de la exposición al plomo en la población humana (Burger & Pose 2010).

El Pb tiene efectos tóxicos ya que interviene en el metabolismo del calcio a nivel molecular: en el sistema nervioso, también puede reemplazarlo en las bombas de ATP de calcio y sodio, en sitios de unión a proteínas y compite por la entrada a la mitocondria (Davison *et al.* 2015, Fullmer 1992). Los efectos adversos son a nivel nervioso, especialmente en niños ya que es neurotóxico, mientras que en adultos causa hipertensión y falla renal (Fowler *et al.* 2015).

El Pb puede incorporarse al hueso desde la superficie de éste o por su similitud al calcio ser confundido durante la mineralización, siendo el segundo mecanismo el más probable (Bronner & Stein 1992). Debido a esto, el esqueleto contiene aproximadamente el 90% del Pb alojado en el cuerpo, el cual puede ser continuamente movilizado y ser una forma de exposición endógena considerable (Kakuscke *et al.* 2005, van Wijngaarden *et al.* 2009).

El hueso acumula Pb, por lo que es considerado un marcador de la exposición histórica (Rabinowitz 1991). La inmovilización del Pb en el hueso, puede actuar como un mecanismo de detoxificación que puede ser un resultado incidental de las propiedades del ion divalente más que a un “intento deliberado” de los organismos (Bruce 2006). Este metal también se incorpora a los dientes y la tasa de remoción en este tejido es baja (Gulson & Gillings 1997). Los dientes son una fuente confiable de la exposición ambiental al Pb en humanos (Karahalil *et al.* 1997), si la concentración es mayor a $4 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ se sugiere que es un indicador de plumbemia (al-Mahroos & al-Saleh 1997).

Las concentraciones encontradas en tejidos de mamíferos marinos son de preocupación menor, coincidente con los resultados del presente trabajo (O'Shea 1999). Varios trabajos en los que se analizan numerosos tejidos de una misma especie reportan que las mayores concentraciones de Pb se encuentran en hueso y piel (Braham 1973, Yammamoto *et al.* 1987, Fujise *et al.* 1988, Lavery *et al.* 2008)

incluso en *O. flavescens* (Peña *et al.* 1988). Sin embargo, numerosos trabajos analizan la concentración de este elemento en riñón e hígado, en los cuales las concentraciones están por debajo del nivel de detección o llegan hasta $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en león marino de Steller (Sydeman & Jarman 1998, Holmes *et al.* 2008) y foca de puerto (Brookens *et al.* 2007). Harper *et al.* (2007) en un único caso encontraron un ejemplar con concentraciones de $179 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ aunque este no presentaba signos clínicos de toxicosis por Pb, ni tampoco daño tisular.

La concentración de Pb renal o hepática tanto en belugas como en morsas, no se encuentra correlacionada con la concentración en los dientes, por lo que las comparaciones entre tejidos son muy complejas (Outridge *et al.* 1997). Afortunadamente para este metal se cuentan con numerosos trabajos en matrices calcificadas. En dientes de león marino de Steller, la concentración relativa de Ca y Pb fue muy elevada en individuos pertenecientes a zonas con alto impacto antrópico (Ando *et al.* 2005) y las concentraciones de Pb encontradas fueron mayores a las del presente trabajo (Tabla 4). Cabe destacar que dicho promedio considera a los individuos con datos extremos. Por otro lado, en varias especies de delfines de Australia las concentraciones de Pb son también notoriamente mayores (Tabla 4) (Lavery *et al.* 2009). Además, los ecosistemas marinos y costeros de Asia son los que presentan mayor contaminación por Pb, mientras que América del Sur se encuentra entre los niveles más bajos (Shahidul Islam & Tanaka 2004). Se reportaron concentraciones de Pb similares a las de *O. flavescens* en dientes de foca de Wedell de la Antártida (Tabla 4) (Yammamoto *et al.* 1987) y notoriamente menores a morsas Ártico ($2,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Outridge *et al.* 1997). De manera similar, en belugas la concentración de Pb fue similar a la de *A. australis* (Tabla 4) (Outridge *et al.* 1997).

En *O. flavescens* solo se encontró un trabajo en matrices calcificadas (Peña *et al.* 1988), realizado en hueso donde la concentración media fue notoriamente superior al presente trabajo (Tabla 4). Estas diferencias se pueden deber principalmente al rol de la matriz como acumuladora de Pb o a alguna particularidad de los 3 individuos en los que pudo ser detectado este elemento. Además, la técnica utilizada es menos sensible y la concentración media está calculada en base a los 3 individuos cuyo instrumento les permitió la medición por lo que dicho valor está

sesgado a niveles altos de Pb. Sin embargo, en uno de los pocos antecedentes en el que se compara la concentración de Pb en diente y hueso en mamíferos marinos, la concentración en diente fue notoriamente superior a la hallada en hueso en 2 individuos de foca de Wedell (Yammamoto *et al.* 1998).

Los trabajos en tejidos blandos generalmente no muestran asociación con la edad, mientras que en matrices calcificadas los resultados son variables y en muchos casos depende de la metodología utilizada (Honda *et al.* 1986, Outridge *et al.* 1997, O'Shea 1999, Evans *et al.* 1995, Alomary *et al.* 2006, Bryan *et al.* 2007, Brookens *et al.* 2007, Harper *et al.* 2007, Panebianco *et al.* 2012). En dientes de morsas se encontró que la concentración relativa de Pb era particularmente alta durante los primeros años de vida y en los últimos, posiblemente asociado a la transferencia maternal de metales y la posterior acumulación con la edad (Evans *et al.* 1995). La técnica utilizada permite determinar la concentración relativa en cada banda de crecimiento, mientras que estas diferencias pueden ser difíciles de detectar en este trabajo al analizar la concentración de Pb a lo largo de toda la vida. Al igual que en pinnípdos, en humanos no se encontró una asociación con la edad, al utilizar el diente entero para su análisis (Alomary *et al.* 2006). Otro estudio encontró que en humanos la relación de la concentración de Pb en dientes con la edad ha sido controversial y dependiente de cuál sea la exposición ambiental a este elemento (Kamberi *et al.* 2012). En lo que refiere a estudios en hueso, en delfín listado mostraron una relación positiva con la edad del animal (Honda *et al.* 1986). Según estudios toxico-cinéticos, la concentración de Pb en diente debería aumentar con la edad debido a que una vez que es incorporado a la matriz no se produce la remoción (Steenhout *et al.* 1982), por lo que sería de interés realizar estudios específicos en mamíferos marinos para determinar este patrón.

En humanos existe remoción del Pb de los huesos durante el embarazo y la lactancia ya que parte del calcio proviene del esqueleto materno (Piers *et al.* 2001, Téllez-Rojo *et al.* 2002, Bronner 2008), a su vez hay transferencia de éste elemento al feto (Ong *et al.* 1993). Adicionalmente, se ha detectado que la concentración de Pb en dientes es mayor en hombres que en mujeres (Baranowska *et al.* 2004, Alomary *et al.* 2006). En lo que respecta a éste mecanismo en mamíferos marinos, Habran *et al.* (2012) reportaron una transferencia eficiente desde las madres a las

crías en focas grises, por lo que el Pb se moviliza a las crías durante la lactancia. Las hembras de ambas especies podrían transferir parte del Pb que ingieren a las crías, pero el aporte desde la dieta podría ser distinto a lo largo de la vida de las hembras de *A. australis* y *O. flavescens* y por lo tanto resultar en distintas concentraciones entre especies y sexos. Debido a los comportamientos distintos entre sexos en ambas especies (Franco-Trecu *et al.* 2014), las hembras de *A. australis* al alimentarse en áreas más pelágicas que los machos recibirían menor aporte de Pb, además de transferirlo a las crías, disminuyendo su concentración de dicho elemento. Por otro lado, las hembras de *O. flavescens* tendrían hábitos más costeros que los machos y así mantendrían sus concentraciones similares a los machos aunque haya transferencia de Pb a las crías. También es posible que las diferencias entre sexos en la concentración de Pb se deban a las diferencias en el tamaño corporal entre, por lo que en estudios futuros podría incluirse dicha variable en los análisis (Agusa *et al.* 2011). Adicionalmente se propone complementar las diferencias encontradas entre especies realizando comparaciones de hipersensibilidad de ambas especies de pinnípedos de nuestra costa, diferenciando entre sexo, permitiendo cuantificar la exposición ambiental a este elemento (Kaskuschke *et al.* 2005)

Los estudios en tejidos blandos generalmente no han reportado diferencias en la concentración de este elemento entre los sexos (Woshner *et al.* 2001a, , Brayán *et al.* 2007, Brookens *et al.* 2007, Agusa *et al.* 2011, Panebianco *et al.* 2012). Esto podría explicarse debido a las diferencias en la tasa de remoción entre matrices y el tiempo de vida que integra cada una.

Sobre la asociación entre la concentración de Pb y la señal de isótopos estables, existen pocos trabajos y no se han encontrado estudios en matrices calcificadas. Para el pelo del león marino de California no se encontró una asociación lineal entre el Pb y la posición trófica o la señal de N (Elorriaga- Verplancken & Auriolles-Gamboa 2008), tampoco en hígado en foca de puerto (Brookens *et al.* 2007). Análisis transversales a la red trófica en el Ártico encontraron una dilución de la concentración de Pb conforme aumenta el nivel trófico determinado a través de isótopos estables, desde las algas hasta la foca anillada (Campbell *et al.* 2005). Por otro lado, Sydemann *et al.* (1998), encontraron concentraciones crecientes de

Pb desde el Krill a leones marinos de California. Los resultados del presente trabajo muestran mayores concentraciones de Pb conforme aumenta el $\delta^{15}\text{N}$ de ambas especies de pinnípedos (Fig. 3). Así, los individuos de ambas especies, que presentaron mayor posición trófica presentaron mayor concentración de Pb. Los individuos de *O. flavescens*, debido a su mayor tamaño corporal presentan mayores posiciones tróficas (Segura *et al.* 2015) y por lo tanto mayores concentraciones de Pb, sucediendo de igual manera en los individuos de mayor tamaño corporal de *A. australis* (Anexo Fig. 6b).

No se cuenta con trabajos donde se reporte la concentración de Pb específicamente en las especies presa de ambas especies de pinnípedos del Río de la Plata u Océano Atlántico. Las principales especies presa de ambas especies de pinnípedos son carnívoras y debido a su dieta potenciales vectores de Pb (Acuña Plavan *et al.* 2007, García 2007, Gilberto *et al.* 2007, Jamiska *et al.* 2011). Sin embargo, *O. flavescens* consumiría presas de mayor tamaño y menos proporción de calamares (DINARA 2012, Franco-Trecu *et al.* 2014). Tal vez las presas de mayor tamaño y por consecuente mayor posición trófica (Arim *et al.* 2007, Segura *et al.* 2015) podrían transferir mayores niveles de Pb a sus consumidores. En cuanto a pescadilla de calada y pez sable (*Trichurus lepturus*), *O. flavescens* consume generalmente individuos de mayor tamaño que *A. australis* (Naya *et al.* 2002, Frau 2009, DINARA 2012). Desafortunadamente, no se cuenta con la información de tallas en otras especies relevantes en la dieta como brótola y corvina, ni tampoco datos sobre la bioacumulación en dicha especies. También podría analizarse la relación entre la posición trófica y la concentración de Pb en un número mayor animales marinos de la costa uruguaya, ya que por ejemplo, en Ballena franca austral (*Eubalaena australis*), no fueron detectadas concentraciones de Pb en hígado y riñón (Rosas *et al.* 2012) lo que más allá del tejido analizado, podría estar asociado a la baja posición trófica que ocupa.

Por otra parte, los peces costeros tendrían no solo una mayor señal de $\delta^{13}\text{C}$, sino mayor $\delta^{15}\text{N}$ que los pelágicos (Franco-Trecu *et al.* 2012), por lo que *O. flavescens* por su mayor tamaño corporal y por la propia señal de sus presas costeras, tendría una mayor posición trófica generando una mayor acumulación de Pb. En cuanto a la señal de carbono, la concentración de Pb fue mayor en individuos costeros de

ambas especies. Al considerar las diferencias entre especies *O. flavescens* presenta mayores concentraciones. En ambientes costeros de Uruguay como la Bahía de Montevideo, la concentración de Pb fue elevada, incluso de los niveles más altos para esta zona del Atlántico Sud Occidental (Muníz *et al.* 2004), siendo vertido principalmente por la cuenca del arroyo Miguelete (IM 2013, Muníz *et al.* 2004, Raffaele 2012). También hay varios afluentes en el Río de la Plata desde la costa Argentina, cuya concentración en sedimento es mayor al nivel guía para la protección de la biota, aunque menor a los valores que la clasificarían como potencialmente tóxica (Carsen *et al.* 2003). Complementario a los resultados de sedimentos, una mayor concentración de Pb en ambientes costeros ocurre por el aporte atmosféricos de las ciudades durante la quema de combustibles (Libes 2009), por lo que los resultados del presente trabajo muestran un posible aporte antrópico de Pb en ambas especies de pinnípedos de acuerdo a su alimentación próxima a la costa, fuente de éste metal.

El aporte antrópico sin embargo no fue constante a través del antropoceno, ya que los sedimentos muestran un aumento en la concentración de Pb muy probablemente asociado al aumento continuo del uso de gasolinas en el transporte y el desarrollo de la ciudad (García-Rodríguez *et al.* 2010). En el perfil de sedimento se muestra un leve descenso en los primeros centímetros de profundidad, concordante con los reportes de que en el año 2013 se vertía a la cuenca del Miguelete sólo un 7% de los vertidos en la década de los 90' (IM 2013, Raffaele 2012, Muníz *et al.* 2015). Además de la disminución del vertido de Pb desde el Arroyo Miguelete, en la misma década se prohíben combustibles con Pb como aditivo, como ya fue mencionado anteriormente. Este patrón no fue encontrado en ninguna de las especies de pinnípedos de nuestra costa. Tal vez los efectos de ambas reducciones en la emisión de Pb sean evidenciados en las especies de pinnípedos luego de transcurrido un tiempo mayor desde el 2000, por lo en caso de continuarse con estudios de cuantificación de elementos traza en dentina podrían evidenciarse. Aunque otros trabajos que abarcan períodos de tiempo pre industriales (1200-1500D.C) y modernos han tenido dificultad para encontrar diferencias en la concentración de este elemento (Outridge *et al.* 1997).

Los resultados del presente trabajo destacan la potencialidad de la dentina como matriz para estudios de la exposición ambiental al Pb en mamíferos marinos, además de la posibilidad de detectar variaciones pequeñas debido al gran poder de análisis del ICP-MS en matrices calcificadas (Borkowska- Burnecka *et al.* 2010). Deben profundizarse estudios en relación a la acumulación de Pb con la edad y las diferencias entre sexos, así como la transferencia diferencial desde las presas.

Cadmio

El Cd es un componente natural de las rocas, el suelo y los sedimentos (Taylor 1964), aunque la movilización antropogénica es alta (Bjerregaard *et al.* 2015). El consumo de Cd ha aumentado continuamente en el siglo XX y se ha estabilizado desde el año 2000. Se utiliza en procesos industriales ya que protege al hierro de la oxidación, también en menor medida en pigmentos, para estabilizar plásticos y en las baterías alcalinas siendo ésta su aplicación más común (ICdA 2015).

En su estabilidad de unión a ligandos el Cd^{2+} es muy similar al Zn^{2+} y en su competencia por Zn es que ocurren un gran número de efectos. Gran parte del Cd se encuentra unido a MTs específicas y la síntesis de éstas se estimula por la presencia de Cd (Bruce 2006). Las diferencias en la concentración de éste elemento entre matrices puede deberse a la función del órgano (Nordberg *et al.* 2015), así como la presencia de MTs, siendo ésta alta en riñón e hígado (Yamamoto *et al.* 1987, Gerpe *et al.* 2002). El Cd también se aloja en las matrices calcificadas, muy probablemente formando parte de las células (osteoblastos y osteoclastos) más que integrado a la estructura cristalina de la hidroxiapatita (Nordberg *et al.* 2015). En odontoblastos de rata se han identificado la presencia de MTs homologas a las hepáticas y renales a las que éste elemento se une como posible mecanismo de detoxificación en el diente y también en hueso (Badwen Hammarstrom 1975, Sogawa *et al.* 2001). Altas concentraciones de Cd pueden producir daño renal y puede causar afecciones en el esqueleto en casos de exposiciones muy prolongadas como las ocupacionales o fumadores (Nordberg *et al.* 2015).

Los altos niveles de Cd acumulados en tejidos de los mamíferos marinos son consecuencia de la posición trófica que ocupan. Muchos acumulan Cd en los riñones sin mostrar síntomas o daño tisular asociado a una toxicosis, así como

tampoco signos de osteoporosis (Sonne-Hansen *et al.* 2002, Jamiska *et al.* 2011). Una de las hipótesis sobre la razón por la que no se encuentran problemas óseos a pesar de las altas concentraciones de Cd es el alto contenido de vitamina D, calcio y fósforo en la dieta que puede contrarrestar los efectos de éste metal (Sonne-Hansen *et al.* 2002).

El Cd llega a los mamíferos marinos a través de la trama trófica, los organismos filtradores de zooplancton retienen una fracción menor del Cd ingerido. En el zooplancton la concentración llega a 500 - 2000 veces mayores que en el agua. Esta bioacumulación no produce biomagnificación a través de toda la trama trófica (Bjerragarrd *et al.* 2015). En lugares alejados como el Ártico y la Antártida, ballenas y focas presentan altas concentraciones de Cd, debido a la alta ingesta de anfípodos, almejas, moluscos y calamares que son una importante fuente de Cd (Bjerregaard *et al.* 2015).

En el presente trabajo la concentración de Cd varió entre especies siendo mayor en *A. australis* que en *O. flavescens* (Tabla 3). Estas diferencias se deben en parte a los hábitos tróficos de ambas, ya que la concentración de Cd aumentó conforme el área de alimentación fue más pelágica (Fig. 4). Este aumento fue de igual magnitud para ambas especies. Los peces herbívoros como la lisa generalmente presentan elevadas concentraciones de Cd, pero los lobos marinos rara vez depredan sobre peces herbívoros (Jamiska *et al.* 2011, Franco-Trecu *et al.* 2014, Valdivia 2015), mientras que la pescadilla de red (*Macrodon ancylodon*) y la corvina presentan concentraciones muy bajas de Cd en músculo (Marcovecchio & Moreno 1993). En contraste, las presas típicamente pelágicas presentan mayor concentración de Cd (Law *et al.* 1992). Los calamares acumulan Cd en las glándulas digestivas unido a proteínas citosólicas lo que favorecería la transferencia de éste a través de la trama trófica (Bustamante *et al.* 2002). La dieta de *A. australis* se compone en gran parte de cefalópodos, *Loligo sanapaulensis* e *Illex argentinus*. Específicamente, *I. argentinus* del Atlántico Sudoccidental, acumulan Cd a nivel de la glándula digestiva, encontrándose concentraciones hasta de 270 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (peso húmedo) (Gerpe *et al.* 2000). Es importante destacar que las diferencias en la concentración de Cd encontradas entre especies de pinnípedos, asociada a la señal de carbono se mantienen a lo largo de 70 años (Anexo Fig. 4d). Adicionalmente, datos de dieta

muestran una posible sub-representación de ambas especies de calamares en la dieta de *O. flavescens*, aunque no alcanzarían a ser ítems tan importantes como en el caso de *A. australis* (Franco-Trecu *et al.* 2014). El análisis de éstos sesgos son coincidentes con los resultados del presente trabajo, donde algunos individuos de *O. flavescens* presentaron señales promedio de $\delta^{13}\text{C}$ a lo largo de su vida muy similares a ejemplares de *A. australis* y la concentración de Cd también es prácticamente la misma, por lo tanto algunos individuos de *O. flavescens* recurrirían a presas pelágicas como calamar y por lo tanto su señal de carbono es menor y el aporte de Cd mayor (Fig. 4 y Anexo Fig. 5f).

El Cd ha sido un elemento muy estudiado en mamíferos marinos en los cuales existen reportes de su concentración en los que habitan en el Atlántico Sudoccidental. En estos reportes la concentración de Cd fue generalmente mayor en riñón que en hígado, como es reportado en la bibliografía (Tabla 4) (Woshner *et al.* 2001 a y b, Gerpe *et al.* 2002, Gerpe *et al.* 2006). En franciscanas, la concentración en riñón fue de $6,7 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Gerpe *et al.* 2002). Además, no se reportaron diferencias entre sexo y la concentración aumentó conforme aumenta la clase etaria. En dos estudios posteriores, en la misma especie la concentración renal fue menor ($1,3 \mu\text{g.g}^{-1}$) y tampoco se encontraron diferencias entre sexos (Foglia 2013), mientras que en hígado fue de $2,01 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Panebianco *et al.* 2012). En *O. flavescens* en Argentina la concentración media en riñón fue de $2,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ y en hígado de $0,63 \mu\text{g.g}^{-1}$ (Tabla 4) (Peña *et al.* 1988) y en otro estudio posterior en Uruguay se reportaron concentraciones menores en riñón ($1,89 \mu\text{g.g}^{-1}$) (Tagliamonte 2009). Para *A. australis* en la costa Argentina la concentración media en riñón fue notoriamente superior a las especies antes mencionadas y de $48,2 \mu\text{g.g}^{-1}$, siendo también superior a la reportada en Uruguay ($11,9 \mu\text{g.g}^{-1}$) (Gerpe *et al.* 1990 en Marcovechio 1990, Tagliamonte 2009). En todos los casos *A. australis*, especie de pinnípedo que consume mayor proporción de calamares en la dieta presentó concentraciones mayores de Cd, siendo este resultado congruente con lo encontrado en la dentina de ambas especies. En futuros estudios podría analizarse la concentración de Cd en dentina de franciscana considerando su señal de carbono, lo que permitiría confirmar la relación observada entre ambas variables y tal vez permita visualizar un gradiente de la concentración de Cd considerando la proporción de calamares en las dietas de las tres especies de mamíferos marinos.

El Cd dental y el renal se correlacionan positivamente en belugas y morsas, (Outridge *et al.* 1997), por lo que podría compararse de cierta forma los resultados encontrados en otros trabajos en las mismas especies en las costas argentinas y uruguayas. En humanos se cree que la concentración encontrada en dientes y hueso se encuentra asociada a la renal pero dicha relación puede no ser lineal (Fosse & Berg Justesen 1977).

Con respecto a la señal de carbono, en belugas se encontró el mismo patrón que el del presente trabajo, así como también una asociación negativa con la señal de nitrógeno (Dehn *et al.* 2006b). Se encontraron mayores concentraciones de Cd (aproximadamente de $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) en individuos de hábitos más pelágicos asociándolo también a una dieta con mayor proporción de cefalópodos. Los autores proponen que al incluir calamares su posición trófica también es menor y por lo tanto encuentran una asociación negativa con el nivel trófico. En el mar del Norte y el Atlántico Norte también se encontró asociado a la señal de carbono y nitrógeno negativa con la concentración de Cd renal considerando varias especies cetáceos (Das *et al.* 2003). Por otra parte, Campell *et al.* 2005 reportaron una biodilución de Cd en la trama trófica en el ártico, aunque no analizaron la relación con la señal de nitrógeno sino que realizaron una comparación a través de las dietas (Campbell *et al.* 2005). Otros trabajos no han encontrado asociación entre éstas variables en algunas especies de cetáceos (Dehn *et al.* 2004, Das *et al.* 2006 b), ni con $\delta^{13}\text{C}$ (Das *et al.* 2004).

En la presente tesis no se encontró un cambio en la concentración de Cd en el tiempo. Otros estudios históricos han encontrado concentraciones menores en dientes actuales de morsa con respecto a los recuperados de excavaciones (Outridge *et al.* 2005). En dientes humanos, se propone que concentraciones de Cd inferiores a $0,060 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ corresponden a un ambiente no contaminado y hasta $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ los límites naturales que indicarían una absorción que puede ser controlada por el organismo (Fosse & Bergjustesen 1977). Por lo que los valores del presente trabajo no serían concentraciones que el metabolismo de *O. flavescens*, ni *A. australis* no pudieran manejar. Además, el aporte de Cd es diferencial entre especies y constante en 70 años de acuerdo a los hábitos tróficos de ambas especies. En estudios en hueso en focas de Weddell y en delfín del pacífico la concentración fue

similar a la encontrada en *O. flavescens* (Tabla 4) (Yamamoto *et al.* 1987, Lavery *et al.* 2008). Adicionalmente en el delfín listado se analizó la concentración en hueso, siendo similar a la concentración encontrada en *O. flavescens* en el presente trabajo (Tabla 4) (Honda *et al.* 1986). Mientras que en el león marino de California en México, la concentración en hueso fue notoriamente superior en algunas colonias que presentan tendencias decrecientes desde hace 20 años (Tabla 4) (Szteren & Auriolles-Gamboa 2013). En cuanto a la concentración en sedimentos, Burone *et al.* (2011) analizaron la concentración de Cd en la Bahía de Montevideo a través del antropoceno. Dicho trabajo mostró una concentración prácticamente constante, siendo éste el punto de la costa uruguaya con mayor impacto antropogénico (Muníz *et al.* 2002, 2004). Éstos antecedentes facilitan la interpretación de los resultados del presente trabajo ya que la concentración de Cd fue constante en ambas especies de pinnípedos a lo largo de 70 años. En 2004, se encontraron bajas concentraciones en sedimento de la misma bahía (Muníz *et al.* 2004). Actualmente, los niveles en sedimento se encuentran por debajo de los límites de detección, se cree que esto ocurre debido al bajo uso de fertilizantes no son de uso extendido en Uruguay (Muníz *et al.* 2015). Solo se encontró un trabajo que analice la variación de Cd en tiempo en mamíferos marinos, en el cual la concentración de dicho elemento fue mayor en los años 1400 DC y 1800 que en los 90s, por lo que los autores consideran que el aporte de Cd a la población es insignificante (Outridge *et al.* 2005).

Con respecto a la diferencia entre sexos, los resultados en mamíferos marinos han sido sumamente variables según la especie analizada, la localidad y la matriz utilizada. En la presente tesis se reportaron concentraciones mayores en los machos de ambas especies de pinnípedos, pudiendo deberse a la transferencia del Cd de las hembras al feto y durante la lactancia (Fig. 4). Algunos estudios realizados en foca de Groenlandia muestran que el Cd no atravesaría la barrera transplacentaria y la transferencia a través de la leche es baja (Wagermann *et al.* 1988). En contraste, otros autores mencionan que si podría existir dicha transferencia transplacentaria en la misma especie, pero de todas formas las hembras presentarían mayores concentraciones que los machos (Ronald *et al.* 1984). En franciscana no ocurriría transferencia transplacentaria de Cd, ni tampoco durante la lactancia (Gerpe *et al.* 2002). Los bajos niveles registrados en cachorros recién nacidos de *A. australis* sugiere una baja transferencia transplacentaria o durante la lactancia y que luego del

destete se registró un rápido incremento en la concentración de Cd muy probablemente a la incorporación de calamares en la dieta (Gerpe *et al.* 2009). Paralelamente, los resultados de Habran *et al.* (2012) demuestran que el Cd sí sería transferido por la placenta. Sería interesante profundizarse estudios en ambas especies de pinnípedos para dar cuenta de la variación encontrada entre sexos, ya por otra parte, en algunas especies de pinnípedos la concentración fue mayor en hembras que en machos (Honda *et al.* 1986, Bustamante *et al.* 2004, Tagliamonte 2009).

En lo que respecta a la asociación del Cd con la edad, el patrón no es constante entre matrices, ni entre especies. Fue positiva en riñón e hígado en foca gris (Bustamante *et al.* 2004), en belugas (Dehn *et al.* 2006b), león marino de Steller (Hamanaka *et al.* 1982). Sin embargo, en trabajos anteriores Dehn *et al.* (2005) han encontrado una relación asintótica con la edad en el riñón de varias especies de fócidos del Ártico. También reportaron una asociación positiva con ésta variable en músculo (Anan *et al.* 2002). En franciscanas de la costa de Argentina, la edad se correlacionó positivamente con la concentración de Cd en hígado (Panebianco *et al.* 2012). En lo que respecta a estudios en diente, Outridge *et al.* (2005) no encontraron una asociación con la edad en dientes de belugas, coincidiendo con los resultados del este trabajo. Esto podría deberse a que los cambios en la concentración de Cd con la edad pueden no depender solo de la ventana temporal que muestre el tejido analizado, y de la capacidad de acumulación del elemento del tejido analizado, sino también de posibles cambios en la dieta a lo largo de la vida de los individuos (Dehn *et al.* 2005).

Discusión general y conclusiones

Con respecto a las hipótesis planteadas en la presente tesis, la primera hipótesis, se cumplió parcialmente para el Cr ya que éste elemento aumentó paulatinamente hasta la década del 80, seguido de una disminución en los siguientes años. *O. flavescens* presentó mayores concentraciones de Cr que *A. australis* debido al aporte antrópico, encontrándose las mayores concentraciones en individuos de mayor posición trófica. En relación a la segunda hipótesis, que planteaba que *O. flavescens* estaría más expuesta a los metales debido a sus hábitos costeros, se cumplió para los elementos con mayor aporte antrópico (Pb y Cu), especialmente

en machos e individuos de alimentación más costera. Por último, de acuerdo a lo planteado en la tercera hipótesis, se registraron mayores concentraciones de Cd en *A. australis* que en *O. flavescens* debido a sus alimentación en zonas pelágicas. Adicionalmente, los individuos de ambas especies que presentaron hábitos más costeros presentaron mayores concentraciones de Cu y Pb, mientras que los más pelágicos presentaron mayores concentraciones de Cd. Las concentraciones encontradas de todos los elementos potencialmente tóxicos fueron bajas, por lo que no podrían ser la causa de las tendencias poblacionales. Los niveles encontrados no producirían cambios en las funciones metabólicas de los individuos, serían niveles capaces de controlar mediante respuestas adaptativa, y por lo tanto no habría consecuencias directas en la población (Capuzzo *et al.* 1988, Libes 2009). Sin embargo, los individuos de *O. flavescens* podrían estar más susceptibles o vulnerables debido al aporte de metales de origen antropogénico. El aporte de éstos elementos, junto con otros estresores que presenta la población como la superposición en las áreas de alimentación con la pesca artesanal e industrial (Szteren & Lezama 2009, Riet-Sapriza *et al.* 2012, De María *et al.* 2014) y la utilización de los mismos recursos con ambas pesquerías (Szteren *et al.* 2004, DINARA 2012) y la matanza directa (Harwood 1987) podrían inducir o favorecer la disminución poblacional.

Los modelos propuestos pudieron explicar parte de la variación en la concentración de Cu, Cr, Pb y Cd de acuerdo a las principales variables que afectan la acumulación de elementos traza en ambas especies de pinnípedos. Otras variables propias de los individuos como el tamaño corporal, la interacción entre elementos traza en los patrones de acumulación y un análisis más detallado de la edad de los individuos, pueden también explicar la concentración de elementos traza ya que los modelos propuestos explican solo una porción de la variación. Así mismo, las condiciones ambientales como el pH y salinidad son factores que condicionan si los elementos trazas se encuentran en suspensión o alojados en los sedimentos. En estuarios, el cambio de pH, cuando el agua marina se encuentra con el agua dulce, produce una intensa floculación de las arcillas y otros materiales que adsorben los elementos traza a éstos flóculos, produciéndose una intensa sedimentación (Clark *et al.* 1997). Los metales almacenados en sedimentos quedan allí secuestrados y no disponibles, disminuyendo su concentración en el agua (Phillips 1977). Sin

embargo, durante el dragado de los puertos o canales de navegación estos elementos traza vuelven a estar en suspensión (Clark *et al.* 1997). Por lo que la dinámica del Río de la Plata y su frente marítimo, afectan la disponibilidad de elementos traza y por consiguiente su destino en la trama trófica. Tal vez podría ser de interés modelar efectos extremos, de los cuales cambian drásticamente la descarga del Río de la Plata como los fenómenos del Niño y el viento (Ecoplata 1997, García-Rodríguez *et al.* 2013) en otros abordajes históricos sobre el la concentración de elementos traza en otros componentes de la trama trófica. Muy probablemente en caso de analizar la concentración de elementos traza en un período más acotado de tiempo, con una menor variabilidad de otras variables que puedan afectar el aporte de éstos, la porción explicada por el modelo en base a los isótopos estables podría ser mayor. En el caso de los restantes elementos traza, dicha variación puede no ser explicada por otras variables ya que cumplen un rol metabólico.

Los resultados del presente trabajo confirman la potencialidad de la dentina para el análisis de la concentración de elementos traza, ya sea para la caracterización de los elementos presentes en la misma o para evaluar su exposición ambiental diferencial en distintas especies de mamíferos marinos. Es una matriz práctica y confiable para evaluar la exposición ambiental de acuerdo a los hábitos, posición trófica o contaminación ambiental particularmente para el Cu, Cr, Pb y Cd, mientras que los otros elementos presentaron concentraciones altamente conservadas. Los resultados son robustos, debido a la tecnología implementada para su detección permite evitar interferencias entre elementos, siendo de las más precisas utilizadas actualmente (Lee *et al.* 1999; Webb *et al.* 2005). Otra ventaja de la dentina, a diferencia de otras matrices utilizadas tradicionalmente, es que refleja la exposición o concentración de los elementos a lo largo de la vida del individuo. Los animales varados se podrían encontrar previamente bajo estrés fisiológico debido a alguna enfermedad, trauma o toxicosis y/o en estado de inanición. Dicha condición puede causar un aumento en la tasa metabólica produciendo la movilización de sustancias de reserva, incluidos los metales (Van Heeck & Skoch 1987). En éste sentido, el análisis en órganos blandos puede ser interpretado como toxinas y son producto de éste cambio “momentáneo” (Harper *et al.* 2007), mientras que el análisis de tejidos calcificados debido a sus tasas de remoción más bajas estarían menos sujetos a

dicho proceso. A diferencia del hueso, permite realizar limpiezas exhaustivas, de forma tal de evitar la contaminación por el almacenado de las muestras además de encontrarse en el interior del diente por lo que su exposición es menor. En estudios futuros, podrían incorporarse técnicas que permitan la cuantificación en cada capa de crecimiento para una correcta interpretación de los procesos de acumulación a lo largo de la ontogenia de los organismos, detalle que se pierde al analizar el promedio a lo largo de la vida. También podría complementarse con la cuantificación de MTs en la dentina y de ésta forma poder comparar las concentraciones entre matrices.

Por último, la dentina es una matriz independiente del estado de descomposición del organismo, es fácil de preservar, y permite realizar comparaciones con restos históricos, incluso fósiles (Outridge *et al.* 2005). Esto permite analizar cambios a largo plazo en la concentración de elementos traza, fundamentales para entender los valores actuales de dichos elementos.

Tabla 4. Recopilación bibliográfica de la concentración de elementos traza en matrices calcificadas en mamíferos marinos. Se muestra la concentración media y desvío estándar (DE) reportado por el trabajo consultado en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, con * se señalan las concentraciones en peso húmedo. Adicionalmente se muestra la concentración de elementos traza analizados en hígado, riñón y músculo en *Otaria flavescens* y *Arctocephalus australis*.

Elemento traza	Especie	Matriz	Media	DE	Referencia	
Fe	<i>Dugong dugon</i>	diente	6,4 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	3,2	Edmonds <i>et al.</i> 1997	
	<i>Leptonychotes weddellii</i>	diente	17,9	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987	
	<i>Phocoenoides dalli</i>	hueso	281	-	Fujise <i>et al.</i> 1988	
	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	101*	12,9	Honda <i>et al.</i> 1986	
	<i>Zalophus californianus</i>	hueso	58,81	-	Szteren & Auriolles-Gamboa 2013	
Zn	<i>Arctocephalus australis</i>	hígado	56,5*	11,1	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994	
		hígado	8,31*	9,05	Gerpe <i>et al.</i> 2006	
		riñón	44,2*	8,2	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994	
		riñón	6,45*	7,5	Gerpe <i>et al.</i> 2006	
		músculo	28,2*	15,4	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994	
	<i>Otaria flavescens</i>	músculo	7,74*	5,8	Gerpe <i>et al.</i> 2006	
		<i>Leptonychotes weddellii</i>	diente	101*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
			hueso	87,8	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	409*	39	Honda <i>et al.</i> 1986	
	<i>Phoca vitulina</i>	hueso	98,0	-	Agusa <i>et al.</i> 2011	
	<i>Phocoenoides dalli</i>	hueso	296*	-	Fujise <i>et al.</i> 1988	
	<i>Zalophus californianus</i>	hueso	60,78*	-	Szteren y Auriolles-Gamboa 2013	
	Al	<i>Zalophus californianus</i>	hueso	73,70		Szteren y Auriolles-Gamboa 2013
Ni	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	0,08*	0,05	Honda <i>et al.</i> 1986	
	<i>Phocoenoides dalli</i>	hueso	0,22	-	Fujise <i>et al.</i> 1988	
Mn	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	0,82*	0,22	Honda <i>et al.</i> 1986	
	<i>Leptonychotes weddellii</i>	diente	1,35*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987	
	<i>Phoca vitulina</i>	hueso	0,67	-	Agusa <i>et al.</i> 2011	
	<i>Phocoenoides dalli</i>	hueso	0,55	-	Fujise <i>et al.</i> 1988	
Cu	<i>Arctocephalus australis</i>	hígado	12,2*	2,0	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994	
		riñón	3,9*	0,9	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994	
		músculo	1,7*	0,1	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994	
	<i>Otaria flavescens</i>	hígado	1,26*	0,57	Gerpe <i>et al.</i> 2006	
		riñón	0,92*	0,57	Gerpe <i>et al.</i> 2008	
			músculo	0,83*	0,5	Gerpe <i>et al.</i> 2006
	<i>Delphinapterus leucas</i>	diente	0,17*		Outridge <i>et al.</i> 1997	

Continuación Tabla 4

	<i>Leptonychotes weddellii</i>	diente	0,42*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
		hueso	0,77*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
	<i>Odobenus rosrnams</i>	diente	0,44*	-	Outridge <i>et al.</i> 1997
	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	0,48*	0,01	Honda <i>et al.</i> 1986
Se	<i>Phoca vitulina</i>	hueso	3,8	-	Agusa <i>et al.</i> 2011
	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	0,75	-	Honda <i>et al.</i> 1986
Cr	<i>Phoca vitulina</i>	hueso	0,093	-	Agusa <i>et al.</i> 2011
Pb	<i>Otaria flavescens</i>	hueso	1,6*	0,2	Peña <i>et al.</i> 1988
	<i>Delphinus leucas</i>	diente	0,16	0,04	Kinghorn <i>et al.</i> 2008
	<i>Delphinapterus leucas</i>	diente	0,2*	-	Outridge <i>et al.</i> 1997
	<i>Eumetopias jubatus</i>	diente	10,04	11,6	Agusa <i>et al.</i> 2011
	<i>Leptonychotes weddellii</i>	hueso	0,48*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
		diente	0,48*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	0,39	0,08	Honda <i>et al.</i> 1986
	<i>Odobenus rosrnams</i>	diente	2,0*	-	Outridge <i>et al.</i> 1997
	<i>Phoca vitulina</i>	hueso	0,11	-	Agusa <i>et al.</i> 2011
	<i>Phocoenoides dalli</i>	hueso	0,15*		Fujise <i>et al.</i> 1988
	<i>Trusiops aduncus</i>	hueso	2,78*	3,07	Lavery <i>et al.</i> 2008
	<i>Tursiops truncatus</i>	hueso	0,85*	0,19	Lavery <i>et al.</i> 2008
	<i>Delphinus delphis</i>	hueso	1,03*	0,55	Lavery <i>et al.</i> 2008
Cd	<i>Arctocephalus australis</i>	hígado	34,5*	17,1	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994
		riñón	11,9*	-	Tagliamonte 2009
		riñón	48,15*	24,1	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994
		músculo	0,4*	0,1	Gerpe <i>et al.</i> 1990 en Marcovechio <i>et al.</i> 1994
		músculo	0,12*	0,21	Gerpe <i>et al.</i> 2006
	<i>Otaria flavescens</i>	hígado	1,1*	0,66	Peña <i>et al.</i> 1988
		hígado	0,63	0,47	Gerpe <i>et al.</i> 2006
		riñón	1,89*	-	Tagliamonte 2009
		riñón	5,65*	2,33	Peña <i>et al.</i> 1988
		riñón	2,16*	2,39	Gerpe <i>et al.</i> 2006
	<i>Delphinapterus leucas</i>	diente	0,029	-	Outridge <i>et al.</i> 1997
	<i>Leptonychotes weddellii</i>	hueso	0,02*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
		diente	0,02*	-	Yamamoto <i>et al.</i> 1987
	<i>Odobenus rosrnams</i>	diente	0,05*	-	Outridge <i>et al.</i> 1997
	<i>Stenella coeruleoalba</i>	hueso	0,18*	0,05	Honda <i>et al.</i> 1986
	<i>Phoca vitulina</i>	hueso	0,003	-	Agusa <i>et al.</i> 2011
	<i>Phocoenoides dalli</i>	hueso	0,23*		Fujise <i>et al.</i> 1988
	<i>Trusiops aduncus</i>	hueso	0,047*	0,81	Lavery <i>et al.</i> 2008
	<i>Tursiops truncatus</i>	hueso	-	-	Lavery <i>et al.</i> 2008
	<i>Delphinus delphis</i>	hueso	-	-	Lavery <i>et al.</i> 2008
	<i>Zalophus californianus</i>	hueso	2,99*	-	Szteren & Aurióles-Gamboa 2013

Referencias bibliográficas

- Acuña Plavan, A., Sellanes, J. Rodríguez, L. & Burone, L. 2007. Feeding Ecology of *Urophycis brasiliensis* on the Uruguayan Coast of the Río de La Plata Estuary. *Journal of Applied Ichthyology* 23 (3): 231–39
- Administración Nacional de Combustibles, Alcohol y Portland (ANCAP) 2015. Nuestra historia. Revisada en Noviembre de 2015: <http://www.rondauruguay.gub.uy/MenuVertical/INVIERTAENURUGUAY/ANCAP.aspx>
- Agusa, T., Yasugi, S., Iida, A., Ikemoto, T., Anan, Y., Kuiken, T., Osterhaus, A.D., Tanabe, S. & Iwata, H. 2011. Accumulation Features of Trace Elements in Mass-Stranded Harbor Seals (*Phoca vitulina*) in the North Sea Coast in 2002: The Body Distribution and Association with Growth and Nutrition Status. *Marine Pollution Bulletin* 62 (5): 963–75.
- Alexander, J., 2015. Selenium. In *Handbook on the Toxicology of Metals*, Nordberg, G. F., B. Fowler, & M. Nordberg (Eds) 2015 *Chemosphere*. Elsevier. 1175-1208
- al-Mahroos F., & al-Saleh F.S 1997 Lead levels in deciduous teeth of children in Bahrain. *Annals of Tropical Paediatrics* 17(2) 147:154
- Anan, Y., Kunito, T., Ikemoto, T., Kubota, R., Watanabe, I., Tanabe, S., Miyazaki, N., & Petrov, E. A.. 2002. “Elevated Concentrations of Trace Elements in Caspian Seals (*Phoca caspica*) Found Stranded during the Mass Mortality Events in 2000. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 42 (3): 354–362
- Ando, N., Isono, T., & Sakurai, Y. 2005. Trace elements in the teeth of Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*) from the North Pacific. *Ecological Research*, 20(4), 415–423.
- Alomary, A., Al-Momani, I. F. & Massadeh, A.M. 2006. Lead and Cadmium in Human Teeth from Jordan by Atomic Absorption Spectrometry: Some Factors Influencing Their Concentrations. *The Science of the Total Environment* 369 (1-3): 69–75.
- Arai, N., Mitani, Y., Sakamoto, W., Yoshida, K., Mokuno, Y. & Baba N. 1999. PIXE Analysis of Trace Elements in Northern Fur Seal Teeth. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 150 (1-4): 267–71
- Arim, M., F Bozinovic, & Marquet, P. A. 2007. On the Relationship between Trophic Position, Body Mass and Temperature: Reformulating the Energy Limitation Hypothesis. *Oikos* 116 (9): 1524–30.
- Aubail, A., Dietz, R., Rigét, F., Simon-Bouhet, B., & Caurant, F. 2010. An evaluation of teeth of ringed seals (*Phoca hispida*) from Greenland as a matrix to monitor spatial and temporal trends of mercury and stable isotopes. *The Science of the total environment*, 408(21), 5137–46
- Bawden, J. W., & Hammarstrom, L. E. 1975. Distribution of Cadmium in Developing Teeth and Bone of Young Rats. *Scandinavian Journal of Dental Research* 83: 179–86.

- Baranowska, I., Barchański, L., Bąk, M., Smolec, B., & Mzyk, Z., 2004. X-Ray Fluorescence Spectrometry in Multielemental Analysis of Hair and Teeth. *Polish Journal of Environmental Studies* 13 (6): 639–46.
- Barrett, K. A. & M. B. McBride. 2006. Trace Element Mobilization in Soils by Glyphosate. *Soil Science Society of America Journal* 70(6):1882–88.
- Baruthio, F., 1992. Toxic Effects of Chromium and Its Compounds. *Biological Trace Element Research* 32 (1816): 145–53.
- Becker, P. & Krahn, M., 2000. Concentrations of Polychlorinated Biphenyls (PCB's), Chlorinated Pesticides, and Heavy Metals and Other Elements in Tissues of Belugas, *Delphinapterus leucas*, *Marine Fisheries Review* 62, 81–98.
- Berthon, G., 2002. Aluminium Speciation in Relation to Aluminium Bioavailability, Metabolism and Toxicity. *Coordination Chemistry Reviews* 228 (2): 319–41.
- Bertinato, J., & L'Abbé, M. R., 2004. Maintaining Copper Homeostasis: Regulation of Copper-Trafficking Proteins in Response to Copper Deficiency or Overload. *Journal of Nutritional Biochemistry* 15 (6): 316–22.
- Bjerregaard, P., Andersen, C. B. I & Andersen, O., 2015. Ecotoxicology of Metals—Sources, Transport, and Effects on the Ecosystem. En: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Merian E. (Ed). *Chemosphere*. 425-459
- Borkowska-Burnecka, J., Szymczycha-Madeja, A., & Zyrnicki, W., 2010. Determination of Toxic and Other Trace Elements in Calcium-Rich Materials Using Cloud Point Extraction and Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry. *Journal of Hazardous Materials* 182 (1-3): 477–83.
- Bowen, WD. 1997. Role of Marine Mammals in Aquatic Ecosystems. *Marine Ecology Progress Series* 158: 267–74.
- Braham, H.W. 1973. Lead in the California Sea Lion (*Zalophus Californianus*). *Environmental Pollution*. 5 (4): 253–58.
- Brandao-Neto, Stefan, V., Mendonça, B.B, Bloise, W. & Castro, A.V 1995. The essential role of zinc in growth. *Nutrition Research* 15(3) 335-358
- Bronner, F., & Stein, W. D., 1992. Modulation of bone calcium-binding sites regulates plasma calcium, An hypothesis. *Calcified Tissue International* 50, 483–489.
- Bronner, F., 2008 Metals in Bone: Aluminm, Boron, Cadmium, Chromium, Lanthanum, Lead, Silicon and Stronium. En: Principles of bone biology. Bilezikian J., Lawrence G., Martin, J. (Eds). Academic Press. 516-531.
- Brookens, T. J., Harvey, J. T. & T. M. O'Hara. 2007. Trace Element Concentrations in the Pacific Harbor Seal (*Phoca vitulina richardii*) in Central and Northern California. *The Science of the Total Environment* 372 (2-3): 676–92.
- Brown, C. J., Chenery, S. R. N., Smith, B., Tomkins, A., Roberts, G. J., Sserunjogi, L., & Thompson, M. 2002. A sampling and analytical methodology for dental trace element analysis. *The Analyst*, 127(2), 319–323.

- Brown, C. J., Chenery, S. R. N., Smith, B., Mason, C., Tomkins, A., Roberts, G. J., Sserunjogi, L., & Tiberindwa, J. V. 2004. Environmental Influences on the Trace Element Content of Teeth--Implications for Disease and Nutritional Status. *Archives of Oral Biology* 49 (9): 705–17.
- Brown, E., & Taylor, M. (2003). Essential Chromium? *Journal of American Leather Chemists Association*, 98, 408-414.
- Bruce, R. M. 2006. Metal Ion Toxicity.” In: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry* John Wiley & Sons (Eds) *Chemistry*, 1–11.
- Bryan, C. E., Christopher, S. J., Balmer, B. C., & Wells, R. S., 2007. Establishing Baseline Levels of Trace Elements in Blood and Skin of Bottlenose Dolphins in Sarasota Bay, Florida: Implications for Non-Invasive Monitoring. *The Science of the Total Environment* 388 (1-3): 325–42.
- Burger, J & Gochfeld, M. 2009. Comparison of Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead, Manganese, Mercury and Selenium in Feathers in Bald Eagle (*Haliaeetus Leucocephalus*), and Comparison with Common Eider (*Somateria Mollissima*), Glaucous-Winged Gull (*Larus Glaucescens*), Pigeon Guillemot (*Cephus columba*), and tufted puffin (*Fratercula cirrhata*) from the Aleutian Chain of Alaska. *Environmental Monitoring and Assessment* 150 (0): 357–67.
- Burger M. & Pose, D. 2010 Plomo en Uruguay. En Plomo Salud y Ambiente. Experiencia en Uruguay. Burger M. & Pose, D. (Eds). Organización Panamericana de la Salud. 27- 56
- Burone, L., Michaelovitch de Mahiques, M., Lopes Figueira R. C, García-Rodríguez, F., Sprechmann P., Alvarez Y., Muniz, P, Brugnoli, E., Venturini N, de Mello, S. H & Centurión S. E. (2011) Evolución paleoambiental de la bahía de Montevideo (Uruguay), Bases para el establecimiento de un modelo ambiental. En *El Holoceno en la zona costera de Uruguay*, García- Rodirguez (Ed). CSIC-Universidad de la República. 119-230
- Bustamante, P., Caurant, F., Fowler, S. W., & Miramand, P. 1998. Cephalopods as a key of the transfer of cadmium to top marine predators. *Environment*, 1, 71–80.
- Bustamante, P, Cosson RP, & Gallien, I. 2002. Cadmium Detoxification Processes in the Digestive Gland of Cephalopods in Relation to Accumulated Cadmium Concentrations. *Marine Environmental Research* 3: 227–41.
- Bustamante, P, Morales, C. F., Mikkelsen, B. Dam M. & Caurant, F. 2004. Trace Element Bioaccumulation in Grey Seals *Halichoerus grypus* from the Faroe Islands. *Marine Ecology Progress Series* 267: 291–301.
- Burton, R., & Koch, P. 1999. Isotopic tracking of foraging and long-distance migration in northeastern Pacific pinnipeds. *Oecologia*, (119), 578–585
- Clark R.B., Frid, C. & Attrill, M. 1997 Marine Pollution. Clarendon Press Oxford 161 p
- Campbell, L. M., Norstrom, R. J., Hobson, K. A., Muir, D. C.G., Backus, S., & Fisk, A. T.. 2005. Mercury and Other Trace Elements in a Pelagic Arctic Marine Food Web (Northwater Polynya, Baffin Bay). *Science of The Total Environment* 351-352: 247–63. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.02.043.

- Capuzzo, J. M., M. N. Moore, and J. Widdows. 1988. "Effects of Toxic Chemicals in the Marine Environment : Predictions of Impacts from Laboratory Studies. *Aquatic toxicology* 11:303–11.
- Carsen, A.E., 2002. Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo: Prevención y Control de la Contaminación y Restauración de Hábitats. FREPLATA. Buenos Aires, Argentina 27 pp.
- Ciesielski, T., P. Szefer, Zs Bertenyi, I. Kuklik, K. Skóra, J. Namieśnik, and P. Fodor. 2006. Interspecific Distribution and Co-Associations of Chemical Elements in the Liver Tissue of Marine Mammals from the Polish Economical Exclusive Zone, Baltic Sea. *Environment International* 32 (4): 524–32.
- Colombo, J. C., Bilos C., Remes Lenicov M., Colautti D., Landoni, P. & Brochu, C. 2000. Detritivorous Fish Contamination in the Río de La Plata Estuary: A Critical Accumulation Pathway in the Cycle of Anthropogenic Compounds. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57 (6): 1139–50.
- Corrales, D, Acuña, A. Salhi, M, Saona, G & Brugnoli, E. (Accepted, In Press). Copper, Zinc, Mercury and Arsenic content in *Micropogonias furnieri* and *Mugil platanus* from Montevideo coastal zone (Río de la Plata). *Brazilian Journal of Oceanography*.
- Covington, A. D, Lampard G. S., Menderes O., Chadwick A. V, Rafeletos G., & O'Brien, P. 2001. Extended X-Ray Absorption Fine Structure Studies of the Role of Chromium in Leather Tanning. *Polyhedron* 20 (5): 461–66.
- Crespo, E. A., Schiavini, A. C. M., García, N. A., Franco-Trecu, V., Goodall, R. N. P., Rodríguez, D., Stenghel Morgante, J. & de Oliveira, L. R. 2015 In Press. Status, Population Trend and Genetic Structure of South American Fur Seals, *Arctocephalus australis*, in Southwestern Atlantic Waters. *Marine Mammal Science*.
- Crossgrove, J., and W. Zheng. 2004. Manganese Toxicity upon Overexposure. *NMR Biomed* 17 (8): 544–533.
- Danielsson, B.R.G., Hassoun, E. & Dencker, L. 1982 Embryotoxicity of chromium: Distribution in pregnant mice and effects on embryonic cells in vitro. *Archives of Toxicology* 51(3) 233-245
- Das, K., Beans, C., Holsbeek, L., Mauger, G., Berrow, S. D., Rogan, E., & Bouqueneau M., 2003. Marine Mammals from Northeast Atlantic: Relationship between Their Trophic Status as Determined by $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ Measurements and Their Trace Metal Concentrations. *Marine Environmental Research* 56 (3): 349–65.
- Das, K., Debacker V., Pillet, S., & Bouqueneau, J. M., 2003 b. Heavy metals in marine mammals In: *Toxicology of marine mammals*, Vos, J. G., Bossart G D., Fournier M, & O'Shea T.J (Eds) CRC. 135-167
- Das, K., Lepoint, G., Loizeau, V., Debacker, V., Dauby, P., & Bouqueneau, J. M., 2000. Tuna and Dolphin Associations in the North-East Atlantic: Evidence of Different Ecological Niches from Stable Isotope and Heavy Metal Measurements. *Marine Pollution Bulletin* 40 (2): 102–9.
- Das, K., Holsbeek, L., Browning, J., Siebert, U., Birkun, A., & Bouqueneau, J.-M. 2004. Trace metal and stable isotope measurements ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in the harbour

- porpoise *Phocoena phocoena relicta* from the Black Sea. *Environmental pollution* 131 (2), 197–204.
- Davison, T., Ke, Q. & Costa, M., 2015. Selected Molecular Mechanisms of Metal Toxicity and Carcinogenicity. In: *Handbook on the Toxicology of Metals. Chemosphere*. Nordberg, G., Fowler, B. & Nordberg, M. (Eds) 9. 174:196
- Dehn, L. A., Sheffield, G.G., Follmann, E. H., Lawrence, K. D., Thomas, D. L., Bratton, G. R., Taylor J. R. & O'Hara, T. M 2005. Trace Elements in Tissues of Phocid Seals Harvested in the Alaskan and Canadian Arctic: Influence of Age and Feeding Ecology. *Canadian Journal of Zoology* 746: 726–46.
- Dehn, L.A., Follmann, E.H., Thomas, D.L., Sheffield, G.G., Rosa, C., Duffy, L.K.& O'Hara, T.M., 2006 (a). Trophic relationships in an Arctic food web and implications for trace metal transfer. *Science of the Total Environment*. 362, 103–23.
- Dehn, L.A., Follmann E. H., Rosa C., Duffy L. K., Thomas D. L, Bratton G. R, Taylor R. J & O'Hara, T. M. 2006 (b). Stable Isotope and Trace Element Status of Subsistence-Hunted Bowhead and Beluga Whales in Alaska and Gray Whales in Chukotka. *Marine Pollution Bulletin* 52 (3): 301–19.
- DeNiro, M.J, Epstein, S., 1981. Influence of the diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45:341–353
- De María, M., Barboza F. R., & Szteren, D. 2014. Predation of South American Sea Lions (*Otaria flavescens*) on Artisanal Fisheries in the Rio de La Plata Estuary. *Fisheries Research* 149:69–73.
- Dietz, R, F Riget, & P Johansen. 1996. Lead, Cadmium, Mercury and Selenium in Greenland Marine Animals. *The Science of the Total Environment* 186 (1-2): 67–93.
- Dietz, R, F Riget, & E W Born. 2000. “An Assessment of Selenium to Mercury in Greenland Marine Animals.” *The Science of the Total Environment* 245: 15–24.
- DINARA, 2012. Final report: development of information and key methodologies for the management of the seal population, Programa de Gestión Pesquera Proyecto FAO UTF/URU/025/URU.MGAP- DINARA-FAO, Montevideo, 261 p.
- Dloghy, A. C., & Outten, C. The iron metallome in Eucaryotic Organisms. In: *Metallonomics in cell*. E. Sigel., Sigel, H., Sigel R.K.O. (Eds.) Springer. 12 241–278
- Dorozhkin, S. V., 2007. Calcium Orthophosphates. *Journal of Materials Science* 42.4: 1061–1095.
- Drago, M., Franco-Trecu, V., Zenteno, L., Szteren, D., Crespo, E.A, Riet Sapriza, F. G, Machado, R., Inchausti, P., & Cardona, L., 2015. Sexual Foraging Segregation in South American Sea Lions Increases during the Pre-Breeding Period in the La Plata River Plume. *Marine Ecology Progress Series*. In Press.
- Edmonds, J. S., Y. Shibata, R. I. T. Prince, a. R. Preen, & M. Morita. 1997. Elemental Composition of a Tusk of a Dugong, *Dugong dugon* , from Exmouth, Western Australia. *Marine Biology* 129 (2): 203–14.

- Estes, J.A., Tinker, M.T., Williams, T.M. & Doak, D.F., 1998. Killer whale predation on sea otters linking oceanic and nearshore ecosystems. *Science* 282:473–476.
- Ellingsen D. G, Moller, L. B. & Aseth J. 2015. Cooper. In: Handbook on the toxicology of the metals. Nordber, G. F., Fowler, B.A, Nordberg, M. (Eds). Elsevier. 765-787.
- Elorriaga-Verplancken, F. & Auriolles-Gamboa, D 2008. Trace Metal Concentrations in the Hair of *Zalophus californianus* Pups and Their Relation to Feeding Habits. *Biological trace element research* 126.1-3: 148–64.
- Evans, R., Richner, P., & Outridge, P. 1995. Micro-spatial variations of heavy metals in the teeth of walrus as determined by laser ablation ICP-MS: the potential for reconstructing a history of metal exposure. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 28, 55–60.
- Falla-Sotelo, F. O., Rizzutto, M. A., Tabacniks, M. H., Added, N., Barbosa, M. D. L., Markarian, R. A., Quinelato, Mori, M., Youssef, M. 2005. Analysis and discussion of trace elements in teeth of different animal species. *Brazilian Journal of Physics*, 35(3b), 761–762.
- Fair, P., & Becker, P. 2000. Review of stress in marine mammals. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, (7), 335–354.
- Farlay, D. & Boivin, G. 2012. Bone Quality. En *Osteoporosis*, edited by Y. Dionyssiotis, 1–32. InTech Europe.
- Finley, J. W., Penland, J. G., Pettit, R.E. & Davis, C.D., 2003. Dietary Manganese Intake and Type of Lipid Do Not Affect Clinical or Neuropsychological Measures in Healthy Young Women. *The Journal of Nutrition* 133 (9): 2849–56.
- Francey RJ, Allison CE, Etheridge DM, Trudinger CM, Enting IG, Leuenberger M, Langenfelds RL, Michel E & Steele LP 1999. A 1000-year high precision record of $\delta^{13}\text{C}$ in atmospheric CO_2 . *Tellus B* 51:170–193
- Franco-Trecu, V., Auriolles-Gamboa, D., Arim, M., & Lima, M., 2012. Prepartum and Postpartum Trophic Segregation between Sympatrically Breeding Female *Arctocephalus Australis* and *Otaria Flavescens*. *Journal of Mammalogy* 93 (2): 514–21
- Franco-Trecu, V., Auriolles-Gamboa, D. & Inchausti, P. 2014. Individual Trophic Specialisation and Niche Segregation Explain the Contrasting Population Trends of Two Sympatric Otariids. *Marine Biology* 161 (3): 609–18. doi:10.1007/s00227-013-2363-9.
- Frau, R. 2009. Dieta Del Lobo Fino (*Arctocephalus australis*) En Isla De Lobos (Maldonado, Uruguay) Durante El Período De Reproducción. Tesina para optar por el grado de licenciado en ciencias biológicas. Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 59 p.
- Fry, B. 2006. *Stable Isotope Ecology*. Springer. 308 p
- Foglia, M., 2013. Niveles de mercurio y cadmio en franciscana *Pontoporia blainvillei*, a lo largo de la costa uruguaya. Tesis de Maestría. Universidad de la República, Montevideo 49 p.

- Fosse, G., & Berg Justesen, N. P., 1977. Cadmium in Deciduous Teeth of Norwegian Children. *International Journal of Environmental Studies* 11 (1): 17–27.
- Fowler, S. 1990. Critical review of selected heavy metal and chlorinated hydrocarbon concentrations in the marine environment. *Marine Environmental Research*, 29, 1–64.
- Fowler, A.B., Alexander, J. & Oskarsson, A., 2015. Toxic Metals in Food. In: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Merian E. (Eds) *Chemosphere*. 9, 123- 140
- Fullmer C.S 1992. Intestinal interactions of lead and calcium. *Neurotoxicology* 13(4): 799-807.
- Fujise, Y, Honda K., Tatsukawa R, & Mishima S. 1988. Tissue Distribution of Heavy Metals in Dall's Porpoise in the Northwestern Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, no. 1977: 399–402.
- García, S. 2007. “Ecología Trófica de La Pescadilla de Red, Cynoscion Guatucupa, En El Sector Costero Argentino - Uruguayo (34°-41° LS).” Universidad Nacional de Mar del Plata. 39p
- García-Rodríguez, F., Hutton, M., Brugnoli, E., Venturini, N., Del Puerto, L., Inda, H., Bracco, R., Burone, L & Muniz, P. 2010. Assessing the effect of natural variability and human impacts on the environmental quality of a coastal metropolitan area (Montevideo Bay, Uruguay). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5, 91–100.
- García-Rodríguez, F., Brugnoli, E., Muniz, P., Venturini, N., Burone, L., Hutton, M., Rodríguez, M., Pita, A., KandrataVICIUS, N., Pérez, L., & Verocai, J. 2013. Warm-phase ENSO events modulate the continental freshwater input and the trophic state of sediments in a large South American estuary. *Marine and Freshwater Research* 65, 1–11
- Gerpe, M.S., de Moreno, J.E. A., Moreno, V.J. & Patat, M.L., 2000. Cadmium, zinc and copper accumulation in the squid *Illex argentinus* from the Southwest Atlantic Ocean. *Marine Biology*. 136, 1039–1044.
- Gerpe, M. S, Rodríguez, D., Moreno, V. J., Bastida, R. O., & Moreno, J. E. 2002. Accumulation of heavy metals in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires Province, Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, 1(1), 95–106.
- Gerpe, M., Rodriguez, D., Moreno, J., Bastida, R., & Aizpun, J., 2006. Heavy metal distribution in southern Sea Lions (*Otaria flavescens*) from Argentina. Sea Lions World. In: *Sea Lions of the World*. Trites, W.A. Atkinson, S. K., DeMaster, D. P., Fritz, L. W., Gelatt, T. S., Rea L. D. & Wynee K. M., Alaska Sea Grant College Program, University of Alaska Fairbanks. 45–56.
- Szteren, D., and C. Lezama. 2006. “Southern Sea Lions and Artisanal Fisheries in Piriápolis , Uruguay : Interactions in 1997 , 2001 , and 2002.”
- Gerpe, M. S., Ponce De León A., Bastida R., Moreno V. J., & Rodríguez, D. H. 2009. Sharp Accumulation of Heavy Metals after Weaning in the South American Fur Seal *Arctocephalus Australis* *Marine Ecology Progress Series* 375: 239–45

- Georgopoulos, P.G., Roy A., Opiekun R. E. & Lioy P. J. 2001. Environmental Cooper: Its Dynamics and Human Exposure Issues. *Journal of Toxicology and Environmental Health: Critical Reviews* 4 (4): 341–94.
- Giardino, G. V., Mandiola M. A., Bastida, J., Denuncio P. E, Bastida R.E. & Rodríguez, D. H. 2014 *In Press*. Travel for Sex: Long-Range Breeding Dispersal and Winter Haulout Fidelity in Southern Sea Lion Males. *Mammalian Biology*
- Gil, M.N., Harvey, M. A. & Esteves, J.L., 1999. Heavy metals in intertidal surface sediments from the Patagonian coast, Argentina. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 63, 52–8.
- Giberto, D. A., Bremec, C. S., Acha, E. M. & Mianzan. H. W., 2007. Feeding of the Whitemouth Coaker *Micropogonias furnieri* (Sciaenidae; Pisces) in the Estuary of the Rio de La Plata and Adjacent Uruguayan Coastal Waters. *Atlantica, Rio Grande* 29 (2): 75–84.
- Goericke, R. & Fry, B., 1994. Variations of marine plankton $\delta^{13}\text{C}$ with latitude, temperature, and dissolved CO_2 in the world ocean. *Global Biogeochemical cycles*, 8(1):85-90
- Goldhaber, S. B., 2003. Trace Element Risk Assessment: Essentiality vs. Toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 38 (2): 232–42.
- Gotelli, N. J., & Ellison, A. M., 2006. Food-Web Models Predict Species Abundances in Response to Habitat Change. *PLoS Biology* 4 (10): e324.
- Goyer, R.A. & Clarkson, T.W., 1996. Toxic Effects of Metals 2001. In: *Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*. D. E Klassen (Eds). McGraw-Hill.McGraw-Hill, 811–67.
- Grandi, M. F., Dans, S. L, & Crespo, E. A., 2008. Social Composition and Spatial Distribution of Colonies in an Expanding Population of South American Sea Lions. *Journal of Mammalogy* 89 (5): 1218–28. doi:10.1644/08-MAMM-A-088.1.
- Gulson, B L, & B R Gillings. 1997. Lead Exchange in Teeth and Bone-a Pilot Study Using Stable Lead Isotopes. *Environmental Health Perspectives* 105 (8): 820–24.
- ILZSC, 2015. End Uses of Lead. Revisada en Noviembre 2015. <http://www.ilzsg.org/static/enduses.aspx?from=5> .
- Habran, S., Pomeroy, P. P., Debier, C., & Das, K. 2012. Changes in trace elements during lactation in a marine top predator, the grey seal. *Aquatic toxicology* 126: 455-466.
- Hadjimarkos, D. M., & Bonhorst, C. W., 1959. The Selenium Content of Human Teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 12 (1): 113–16.
- Halpern, B. S., Selkoe, K. A., Micheli, F., & Kappel, C. V. 2007. Evaluating and ranking the vulnerability of global marine ecosystems to anthropogenic threats. *Conservation biology: the journal of the Society for Conservation Biology*, 21(5), 1301–1315
- Halpern, B. S., Walbridge, S., & Selkoe, K. 2008. A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 948–952.
- Hamanaka, T., Itoo T., & Mishima S., 1982. Age-Related Change and Distribution of Cadmium and Zinc Concentrations in the Steller Sea Lion (*Eumetopias Jubatus*) from the Coast of Hokkaido, Japan. *Marine Pollution Bulletin* 13 (2): 57–61.

- Hanson, N.N., Wurster, C.M., Bird M.I., Reid, K. & Boyd, I.L. 2009 Intrinsic and extrinsic forcing in life histories: patterns of growth and stable isotopes in male Antarctic fur seal teeth. *Marine Ecology Progress Series*. 388:263–272
- Harper, E. R., St Leger, J. A., Westberg, J. A., Mazzaro, L., Schmitt, T., Reidarson T. H., Tucker, M., Cross D. H & B. Puschner. 2007. Tissue Heavy Metal Concentrations of Stranded California Sea Lions (*Zalophus californianus*) in Southern California. *Environmental Pollution* 147 (3): 677–82.
- Harwood, J., 1987. Competition between seals and fisheries. *Scientific Progress* 71: 429–437.
- Haynes, D., Carter, S., Gaus, C., Müller, J., & Dennison, W. 2005. Organochlorine and Heavy Metal Concentrations in Blubber and Liver Tissue Collected from Queensland (Australia) Dugong (*Dugong dugon*). *Marine Pollution Bulletin* 51 (1-4): 361–69.
- Hirons, A., Schell, D., Finney, B., 2001. Temporal records of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in North Pacific pinnipeds: inferences regarding environmental change and diet. *Oecologia* 591–601.
- Hobson, K.A., Ambrose, W.G., & Renaud, P.E., 1995. Sources of primary production, benthic-pelagic coupling, and trophic relationships within the Northeast Water Polynya: insights from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis. *Marine Ecology Progress Series*. 128, 1–10
- Hobson, K.A. & Schell, D. 1996. Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 533(1989), 528–533.
- Hobson, K., & Sease, J., 1998. Stable isotope analyses of tooth annuli reveal temporal dietary records: an example using Steller sea lions. *Marine Mammal Science* 14, 116–129.
- Holmes, A. L., Wise, S. S., Goertz, C. G. E., Dunn, J. L., Gulland, F. M. D., Gelatt, T., Beckmen, K. B., Burek, K., Atkinson, S., Bozza, M., Taylor, R., Zheng, T., Zhang, Y. Aboueissa, A. M., Wise, J. P. 2008. Metal Tissue Levels in Steller Sea Lion (*Eumetopias jubatus*) Pups. *Marine Pollution Bulletin* 56 (8): 1416–21
- Holsbeek, L., Joiris C.R., Debacker V., Ali I. B., Roose P., Nellissen, J., Gobert S., Bouqueneau J.M., & Bossicart. M. 1999. Heavy Metals, Organochlorines and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sperm Whales Stranded in the Southern North Sea during the 1994/1995 Winter. *Marine Pollution Bulletin* 38 (4): 304–13.
- Honda, K., Fujise, Y., Tatsukawa, R., Itano, K., & Miyazaki, N. 1986. Age-Related Accumulation of Heavy Metals in Bone of the Striped Dolphin, *Stenella coeruleoalba*. *Marine Environmental Research* 20: 143–60.
- Ikemoto, T, Kunito T., Watanabe, I., Yasunaga G., Baba, N., Miyazaki, N. Petrov, E. A & 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 (1): 83–97.
- Instituto Cuesta Duarte, 2005. Estudios Sectoriales. Sector Textil, Vestimenta y Cuero. PIT –CNT 40 pp.

- IM, 2013 Informe de Efluentes de Industriales. Unidad de Efluentes Industriales. Montevideo. Uruguay. 49 pp.
- Inda, H., del Puerto, L., Bracco, R., Castiñeira, C., Capdepon, I., Gascue, A. & Baezaen, J. 2011. Relación hombre-ambiente para la costa estuarina y oceánica de Uruguay durante el Holoceno. In: *El Holoceno en la zona costera del Uruguay Reflexiones y perspectivas*. García-Rodríguez F (Ed.): CSIC-UdelaR, Montevideo, 262 pp.
- ICdA, 2015. Cadmium Applications. Revised November 2015. <http://www.cadmium.org/cadmium-applications>.
- ICSG, 2014. The World Cooper Fact Book. www.icsg.org. (accedido 25/09/2015) 59 p.
- Izumi, T., Eida T., Matsumoto N., & Inoue H. 2007. Immunohistochemical Localization of Metallothionein in Dental Pulp after Cavity Preparation of Rat Molars. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* 104 (4): e133–137
- Jakimska, A., Konieczka, P., Skóra, K., & Namiesnik, J., 2011. Bioaccumulation of metals in tissues of marine animals. Part II—metal concentrations in animal tissues. *The Polish Journal of Environmental Studies*, 20(5), 1127–1146.
- Jenkins G. N., 1983 Fisiología y Bioquímica Bucal. Editorial Limusa S.A México 624p.
- Jones, F. 2001. Teeth and Bones: Applications of Surface Science to Dental Materials and Related Biomaterials. *Surface Science Reports* 42 (3-5): 75–205.
- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Griesel, S., Fonfara, S., Siebert, U., & Prange, A. 2005 Immunological Impact of Metals in Harbor Seals (*Phoca vitulina*) of the North Sea. *Environmental Science & Technology* 39 (19): 7568–75.
- Kamberi, B., Kocani, F., & Dragusha, E. 2012. Teeth as Indicators of Environmental Pollution with Lead. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 02 (01), 1–5.
- Karahalil, B, B Aykanat, & Ertas., N. 2007. Dental Lead Levels in Children from Two Different Urban and Suburban Areas of Turkey. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 210 (2): 107–12.
- Kelleher, S. L., & Lönnnerdal, B. 2005. Molecular Regulation of Milk Trace Mineral Homeostasis. *Molecular Aspects of Medicine* 26 (4-5): 328–39.
- Kelly, J. 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*, 78, 1–27.
- Kinghorn, A., Humphries M. M., Outridge P., & Man H.. 2008. Teeth as Biomonitors of Selenium Concentrations in Tissues of Beluga Whales (*Delphinapterus leucas*). *Science of the Total Environment* 402: 43–50.
- Klevezal, G A. 1996. Recording structures of mammals: Determination of age and reconstruction of life history. Balkema, A. A., Rotterdam & Brookfield (Eds.). United States. 274 p.
- Kurucz, A., Masello, A., Méndez, S., Cranston, R. & Wells, P. G. 1998. Calidad ambiental del Río de la Plata. In: *El Río de la Plata. Una revisión ambiental* Wells, P.G. & Daborn, G.R. (Eds). Dalhousie University, Halifax, Canada. 71-85.

- La Colla, N. S., Negrin, V. L., Marcovecchio J. E., & Botté, S.E. 2015. "Dissolved and Particulate Metals Dynamics in a Human Impacted Estuary from the SW Atlantic." *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, In Press.
- Lacerda, L.D, Huertas R., Moresco H. F., Carrasco G., Viana F., Lucas R., & Pessi, M 1998. Trace Metal Concentration and Geochemical Partitioning in Arroyo Carrasco Wetlands, Montevideo, Uruguay. *Geochimica Brasiliensis* 12 (1/2): 63–74.
- Lahaye, V., Bustamante, P., Dabin, W., Churlaud, C., & Caurant, F. 2007. Trace Element Levels in Foetus-Mother Pairs of Short-Beaked Common Dolphins (*Delphinus delphis*) Stranded along the French Coasts. *Environment International* 33 (8): 1021–1028.
- Lake, S., H. Burton & Van Den Hoff J., 2003. Regional, Temporal and Fine-Scale Spatial Variation in Weddell Seal Diet at Four Coastal Locations in East Antarctica. *Marine Ecology Progress Series* 254: 293–305.
- Lappalainen, R. & Knuutila, M. 1982. The Concentration of Pb, Cu, Co and Ni in Extracted Permanent Teeth Related to Donors' Age and Elements in the Soil. *Acta Odontologica Scandinavica* 40 (4): 247–48.
- Lavery, T. J., N. Butterfield, C. M. Kemper, R. J. Reid, & K. Sanderson. 2008. Metals and Selenium in the Liver and Bone of Three Dolphin Species from South Australia, 1988–2004. *Science of The Total Environment* 390 (1): 77–85.
- Law, R. J., Jones B.R., Baker J.R, Kennedy S., Milne R., & R.J. Morris. 1992. Trace Metals in the Livers of Marine Mammals from the Welsh Coast and the Irish Sea. *Marine Pollution Bulletin* 24 (6): 296–304.
- Lee, K., & Appleton, J. 1999. Development of a method for the determination of heavy metals in calcified tissues by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Fresenius' journal of Analytical Chemistry*, 245–248.
- Levine, M. 2011. *Topics in Dental Biochemistry*. Nueva York: Springer. 307 p.
- Libes, S. M. 2009. *Introduction to Marine Biogeochemistry*. Academic Press. 925p
- Lima, M. and E. Paez. 1995. Growth and Reproductive Patterns in the South American Fur Seal. *Journal of Mammalogy* 76(4):1249–55.
- Lowry, M. S & Folk, R.L., 1990. Sex determination of the California sea lion (*Zalophus californianus californianus*) from canine teeth. *Marine Mammal Science*. 6, 25–31.
- Lukiw, W.J., 2010. Evidence Supporting a Biological Role for Aluminum in Chromatin Compaction and Epigenetics. *Journal of Inorganic Biochemistry* 104 (9). 1010–1012.
- Luukko, K. Kettunen, P., Fristad , I. & Berggreen E. Structure and Functions of the Dentin-Pulp Complex 2014. In: *Cohen's Pathways of the Pulp*. Hargreaves, K. M, & S. Cohen (Eds). Mosby Elsevier 452-503
- Macomber, L. & Hausinger, P.R, 2012. Mechanisms of Nickel Toxicity in Microorganisms. *Metallomics* 29 (6): 1153–62.
- Matthews, C. J. D., & Ferguson, S. H. 2014 *In Press* Validation of Dentine Deposition Rates in Beluga Whales by Interspecies Cross Dating of Temporal d13 C Trends in Teeth." *NAMMCO Scientific Publication*

- Matthiopoulos, J., Smout S., Winship A.J., Thompson D., Boyd I. L., & Harwood, J. 2008. Getting beneath the Surface of Marine Mammal – Fisheries Competition. *Mammal Review* 38 (2-3): 167–88.
- Matsunaga, K., Murata, H., Mizoguchi, T. & Nakahira, A. 2010. Mechanism of Incorporation of Zinc into Hydroxyapatite. *Acta Biomaterialia* 6 (6): 2289–2293.
- Marchand, C., Lallier-Vergés, E., Baltzer, F., Albéric, P., Cossa, D., & Baillif, P. 2006. Heavy metals distribution in mangrove sediments along the mobile coastline of French Guiana Corresponding author. *Marine Chemistry*, 98, 1–17.
- Marcovecchio, J.E., & Moreno, V. J., 1993. Cadmium, Zinc and Total Mercury Levels in the Tissues of Several Fish Species from La Plata River Estuary, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* 25 (2): 119–30.
- Marcovecchio, J.E. & Gerpe, M. 1994. Environmental contamination and marine mammals in coastal waters from Argentina: an overview. *Science of the total environment*, 154(2), 141–151.
- Marcovecchio, J.E & Ferrer, L., 2005. Distribution and Geochemical Partitioning of Heavy Metals in Sediments of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research*. 214, 826–834.
- Martínez-García, M. J., Moreno, J. M., Moreno-Clavel, J., Vergara, N., García-Sánchez, A, Guillamón, A, Portí, M. & Moreno-Grau, S. 2005. Heavy metals in human bones in different historical epochs. *The Science of the total environment*, 348(1-3), 51–72.
- MECON, 2015. Centro de Documentación e Información. Ley N°23.966. <http://infoleg.mecon.gov.ar/infolegInternet/anexos/0-4999/365/textact.htm>. Revisado Noviembre de 2015.
- Medinsky, M. A, Cuddihy, R. G. & McClellan R.O., 1981. Systemic absorption of selenious acid in elemental selenium aerosols in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 8 (5-6) 917- 928.
- Michener, R. H & Schell, M., 1994. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs, In: *Stable isotopes in ecology and environmental science* K. Lajtha, R. Michener (Eds). Blackwell Scientific.138–157.
- Ministerio de Relaciones exteriores, Comercio Internacional y Culto. 2010. Sector de La Industria Del Aluminio y sus Manufacturas. Buenos Aires. 176pp
- Molina-Schiller, D & Pinedo, M.C., 2004. Using canine teeth for sex determination of the South American fur seal, *Arctocephalus australis*. *Latin American Journal of Aquatic Mammals* 3:19–24.
- Muniz, P., Venturini, N., & Martinez, A. 2002. Physico-Chemical Characteristics and Pollutants of the Benthic Environment in the Montevideo Coastal Zone, Uruguay. *Marine Pollution Bulletin* 44: 962–68.
- Muniz, P., Danulat E., Yannicelli B., García-Alonso J., Medina G., & Bicego, M. C., 2004. Assessment of Contamination by Heavy Metals and Petroleum Hydrocarbons in Sediments of Montevideo Harbour (Uruguay). *Environment International* 29 (8): 1019–28

- Muniz, P., Venturini, N., Martins, C. C., Munish, A. B., Garcia-Rodriguez, F., Brugnoli, E., Lindorth Dauner, A. L., Caruso Bicego, M. & García-Alonso, J.. 2015. Intergrated Assessment of Contaminants and Monitoring of an Ubanized Temperate Harbor (Montevideo, Uruguay): A 12-Year Comparison. *Brazilian Jouranal of Oceanography*. 63 (3): 311–30.
- Muse, J. O., Tudino M. B., d’Huicque L., Troccoli O. E., & C. N. Carducci. 1995. A Survey of Some Trace Elements in Seaweeds from Patagonia, Argentina. *Environmental Pollution*. 87 (2): 249–53.
- Naya, D.E., Arim, M., Vargas, R., 2002. Diet of South American Fur Seals (*Arctocephalus australis*) in Isla De Lobos, Uruguay. *Marine Mammal Science*. 18, 734–745.
- Neuman, W. F., & Neuman, M. W., 1958. The chemical dynamics of bone mineral. *The chemical dynamics of bone mineral*. University of Chicago Press. 209 pp.
- Nordberg G., Norgawa, K., Nordberg, M. Cadmium. In. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Chemosphere Nordberg, G. F., B. Fowler, M. Nordberg (Eds). Elsevier 669- 716
- Nowak, B. & Chmielnicka, J. 2000. Relationship of Lead and Cadmium to Essential Elements in Hair, Teeth, and Nails of Environmentally Exposed People. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46 (3): 265–74.
- Nowak, B, & Kozłowski H. 1998. Heavy Metals in Human Hair and Teeth: The Correlation with Metal Concentration in the Environment. *Biological Trace Element Research* 62 (3): 213–28.
- OMS. 1996 a. *Trace Elements in Human Nutrition and Health World Health Organization*. Ginebra 331p.
- OMS b. 1996 b. *Air Quality Guidelines for Europe*. 2nd. 272pp.
- Ong, C. N., Chia, S. E., Foo, S. C., Ong, H. Y., Tsakok, M. & Liouw P. 1993. Concentrations of Heavy Metals in Maternal and Umbilical Cord Blood. *Biometals* 6 (1): 61–66.
- Outridge, P.M., Evans, R.D., Wagemann, R., & Stewart. R. E. A. 1997. Historical Trends of Heavy Metals and Stable Lead Isotopes in Beluga (*Delphinapterus leucas*) and Walrus (*Odobenus rosmams rosmams*) in the Canadian Arctic. *The Science of the Total Environment* 203: 209–19.
- Outridge, P. M., & Stewart, R. E. A. 1999. Stock Discrimination of Atlantic Walrus (*Odobenus rosmarus rosmarus*) in the Eastern Canadian Arctic Using Lead Isotope and Element Signatures in Teeth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56 (1): 105–12
- Outridge, P. M., Hobson, K.A., & Savelle, J.M. 2005. Changes in Mercury and Cadmium Concentrations and the Feeding Behaviour of Beluga (*Delphinapterus leucas*) near Somerset Island, Canada, during the 20th Century. *The Science of the Total Environment* 350 (1-3): 106–18.
- O’Hara, T.M., Woshner, V. and Bratton, G. 2003. Inorganics in Artic marine mammals. Vos, J. G., Bossart G D., Fournier M, & O’Shea T.J (Eds) CRC. 206-246

- O'Shea, T. 1999. Environmental contaminants and marine mammals. In: J. E. Reynolds & S. A. Rommel (Eds.), *Biology of Marine Mammals* .pp. 485–564. Smithsonian Press. USA.
- Owens, N.J.P. 1987 Natural variations in $\delta^{15}\text{N}$ in the marine environment. *Advances in Marine Biology*, 24, 389–451.
- Páez, E. 2006. Situación de la administración del recurso lobos y leones marinos en Uruguay. In: D. Menafrá, R; Rodríguez-Gallego, L; Scarabrino, F& Conde (Eds.), *Bases para la Conservación y el Manejo de la Costa uruguaya*. VIDA SILVESTRE URUGUAY. Montevideo. pp 1-7
- Pan, Y. & Fleet, M. E. 2002. Compositions of the Apatite-Group Minerals: Substitution Mechanisms and Controlling Factors. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48 (1): 13–49.
- Panebianco, M.V, Botte, S.E., Negri, M.F, Marcovecchio, J. E. & Cappppozzo, H.L. 2012. Heavy Metals in Liver of the Franciscana Dolphin, *Pontoporia blainvillei*, from the Southern Coast of Buenos Aires, Argentina. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology* 7 (1): 33–41.
- Peña, N. I., Moreno, V. J., Marcovecchio, J. E. & 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. *Metals in Coastal Environments of Latin America*. 140-146
- Pierce, G., Stowasser, G., Hastie, L. C., & Bustamante, P. 2008. Geographic, seasonal and ontogenetic variation in cadmium and mercury concentrations in squid (Cephalopoda: Teuthoidea) from UK waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3), 422–432.
- Piesco, N. P., 1994. Histology of dentin. In: *Oral development and histology* Avery, J. K. Steele, P.F, Avery, N (Eds). New York: Theime Medical Publishers. 213-224
- Pires J., Bezerra, F. F, Laboissiere, F. P., Miekeley, N. & Donangelo C. M. Lead levels in erythrocytes and biomarkers of bone turnover in pregnant and lactating women with marginal calcium intakes. *Nutrition Research* 21, 831-841.
- Poleto, C., Bortoluzzi, E. C., Charlesworth, S. M., & Merten, G. H. 2009. Urban sediment particle size and pollutants in Southern Brazil. *Journal of Soils and Sediments*, 9(4), 317–327.
- Ponka, P., Tenenbein, M, Eaton, & Iron J. W.. In Handbook on the Toxicology of Metals. Nordberg, G. F., Fowler, B., Nordberg, M. (Eds) 2015. Elsevier. 879-902
- Post, D., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703–718.
- Priest, N D. 1993. The Bioavailability and Metabolism of Aluminium Compounds in Man. *The Proceedings of the Nutrition Society* 52 (1): 231–40.
- Priest, N D. 2004. The Biological Behaviour and Bioavailability of Aluminium in Man, with Special Reference to Studies Employing Aluminium-26 as a Tracer: Review and Study Update. *Journal of Environmental Monitoring : JEM* 6 (5): 375–403.

- Rabinowitz, M B. 1991. Toxicokinetics of Bone Lead. *Environmental Health Perspectives* 91 (5): 33–37.
- Rabinowitz, M.B., Leviton, A., Bellinger, D., 1993. Relationships between serial blood lead levels and exfoliated tooth dentin lead levels: Models of tooth lead kinetics. *Calcified Tissue International* 53, 338–341.
- Raffaele, A. 2012 Análisis del impacto de los efluentes líquidos industriales y domésticos en la cuenca del Arroyo Pantanoso del Departamento de Montevideo. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales, Universidad de la República, 126 pp.
- Raum-Suryan, K., & Pitcher K. W., 2002. Dispersal, Rookery Fidelity and Metapopulation Structure of Steller Sea Lions (*Eumetopias jubatus*) in an Increasing and a Decreasing. *Marine Mammal Science* 18 (3): 746–64.
- Reynard, B. & Balter, V. 2014. Trace Elements and Their Isotopes in Bones and Teeth: Diet, Environments, Diagenesis, and Dating of Archeological and Paleontological Samples. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* (416): 4–16.
- Reimann, C. & De Caritat, P. 2005. Distinguishing between Natural and Anthropogenic Sources for Elements in the Environment: Regional Geochemical Surveys versus Enrichment Factors. *Science of the Total Environment* 337 (1-3): 91–107.
- Riet-Sapiriza, F.G., Costa, D.P., Franco-Trecu, V., Marín, Y., Chocca, J., González, B., Beathyate, G., Louise Chilvers, B. & Hückstadt, L. A., 2013. Foraging behavior of lactating South American sea lions (*Otaria flavescens*) and spatial-temporal resource overlap with the Uruguayan fisheries. *Deep Sea Research. Part II: Topical Studies in Oceanography*. 88-89, 106–119.
- Ridlington, J.W., & P.D. Whanger. 1981. Interactions of Selenium and Antioxidants with Mercury, Cadmium and Silver. *Toxicological Sciences* 1 (5): 368–75.
- Rodríguez, D. H., Dassis, M., Ponce de León, A., Barreiro. C., Farenga, M., Bastida, R. O, & Randall W. D. 2013. Foraging Strategies of Southern Sea Lion Females in the La Plata River Estuary (Argentina-Uruguay). *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 88-89: 120–30.
- Ronald, K, RJ Frank, JL Dougan, R. Frank, and HE Braun. 1984. “Pollutants in Harp Seals (*Phoca Groenlandica*). I. Organochlorines.” *The Science of the Total Environment* 38. Elsevier: 133–52.
- Rosas, F. C. W., M. Haimovici, and M. C. Pinedo. 1993. Age and Growth of the South American Sea Lion, *Otaria flavescens* (Shaw, 1800), in Southern Brazil. *Journal of Mammalogy* 74(1):141-147
- Roth, J., Ponzoni, S. & Aschner, M. 2013 Manganese homeostasis and Transport. In: *Metalomics and the Cell* . Banci, L. Sigek (Eds). Springer. 609 pp
- Sánchez-Chardi, A, & Nadal, J. Bioaccumulation of Metals and Effects of Landfill Pollution in Small Mammals. Part I. The Greater White-Toothed Shrew, *Crocidura Russula*. *Chemosphere* 68.4 (2007): 703–11.
- Santamaria, A. B. & Sulsky, S. I. 2010. Risk Assessment of an Essential Element: Manganese. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 73 (2): 128–55

- Saltman, P. D. & Strause, L. G. 1993. The Role of Trace Minerals in Osteoporosis. *Journal of the American College of Nutrition* 12 (4): 384–89.
- Seixas, T. G., Kehrig, H. D. A., Fillmann, G., Di Benedetto, A. P. M., Souza, C. M. M., Secchi, E. R., Moreira, I., & Malm, O. 2007. Ecological and Biological Determinants of Trace Elements Accumulation in Liver and Kidney of *Pontoporia blainvillei*. *The Science of the Total Environment* 385 (1-3): 208–20.
- Segura, A. M, Franco-Trecu V., Franco-Fraguas P., Arim M., & Tonn W. 2015. Gape and Energy Limitation Determine a Humped Relationship between Trophic Position and Body Size. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 72 (2): 198–205.
- Shafer, M. M., Siker, M., Overdier, J. T., Ramsel, P. C., Teschler-Nicola, M., & Farrell, P. M. 2008. Enhanced methods for assessment of the trace element composition of Iron Age bone. *The Science of the total environment*, 401(1-3), 144–61.
- Shahidul Islam, M., & Tanaka, M. 2004. Impacts of Pollution on Coastal and Marine Ecosystems Including Coastal and Marine Fisheries and Approach for Management: A Review and Synthesis. *Marine Pollution Bulletin* 48 (7-8): 624–49
- Shearer, T. R. 1975. Developmental and Postdevelopmental Uptake of Dietary Organic and Inorganic Selenium into the Molar Teeth of Rats. *The Journal of Nutrition* 105 (3): 338–47.
- Skoch, E. J. 1990. Heavy metals in marine mammals: Presence and analytical methods. En: *Handbook of marine mammal medicine*. Dierauf, L.A. (Ed.). 127-137. CRC Press. United States
- Sogawa, C. A., Sogawa N., Yamamoto T, Oda N., Inoue T., Onodera K. & Furuta, H. 2001. Localization of Metallothionein (MT) and Expression of MT Isoforms Induced by Cadmium in Rat Dental Pulp. *The Japanese Journal of Pharmacology* 86 (1): 65–72.
- Sonne-Hansen, C., Dietz, R., Leifsson, P. S., Hyldstrup, L., & Riget, F. F. 2002. Cadmium Toxicity to Ringed Seals (*Phoca hispida*): An Epidemiological Study of Possible Cadmium-Induced Nephropathy and Osteodystrophy in Ringed Seals (*Phoca hispida*) from Qaanaaq in Northwest Greenland. *The Science of the Total Environment* 295 (1-3): 167–81.
- Stangl, G.I. & Kirchgessner, M. 1996. Nickel deficiency alters liver lipid metabolism in rats. *Journal of Nutrition*. 126 (10): 2466-2473
- Steenhout, A. 1982. Kinetics of Lead Storage in Teeth and Bones: An Epidemiologic Approach. *Archives of Environmental Health: An International Journal* 37 (4): 224–31.
- Stockin, K. A., Law, R. J. Duignan, P. J., Jones, G. W., Porter, L., Mirimin L., Meynier, L., & Orams, M.B. 2007. Trace Elements, PCBs and Organochlorine Pesticides in New Zealand Common Dolphins (*Delphinus sp.*). *Science of the Total Environment* 387 (1-3): 333–45.
- Suarez, A. A., Sanfelice, D., Cassini, M. H., & Capozzo, H. L. 2005. Composition and Seasonal Variation in the Diet of the South American Sea Lion (*Otaria flavescens*)

- from Quequén, Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Mammals* 4 (2): 163–74.
- Sydeman, WJ, & Jarman, W.M. 1998. Trace Metals in Seabirds, Steller Sea Lion, and Forage Fish and Zooplankton from Central California. *Marine Pollution Bulletin* 36 (10): 828–32.
- Szefer, P., Szefer K., Pempkowiak J., Skwarzec B., Bojanowski R., & Holm E.. 1994. Distribution and Coassociations of Selected Metals in Seals of the Antarctic. *Environmental Pollution* 83 (3): 341–49.
- Szteren, D., Naya, D. E., & Arim, M.. 2004. Overlap between pinniped summer diet and artisanal fishery catches in Uruguay.” *Latin American Journal of Marine Mammals* 3:119–25.
- Szteren, D., & Auriolles-Gamboa, D. 2013. Trace Elements in Bone of *Zalophus californianus* from the Gulf of California: A Comparative Assessment of Potentially Polluted Areas. *Ciencias Marinas* 39 (3): 303–15.
- Rosas, C. L., Gil M. N., & M. M. Uhart. 2012. Trace Metal Concentrations in Southern Right Whale (*Eubalaena australis*) at Península Valdés, Argentina. *Marine Pollution Bulletin* 64 (6): 1255–60.
- Taylor, S.R. 1964. Abundance of Chemical Elements in the Continental Crust: A New Table. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 28 (8): 1273–1285
- Tagliamonte, F., 2009. Detreminación 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. Tesina de grado. Universidad de la República, Montevideo 66 p.
- Téllez-Rojo, M. M., M. Hernández-Avila, T. González-Cossío, I. Romieu, A. Aro, E. Palazuelos, J. Schwartz, and H. Hu. 2002. Impact of Breastfeeding on the Mobilization of Lead from Bone. *American Journal of Epidemiology* 155 (5): 420–28.
- Thiry, C., Ruttens A., De Temmerman L., Schneider Y., & Pussemier L.. 2012. Current Knowledge in Species-Related Bioavailability of Selenium in Food. *Food Chemistry* 130 (4). Elsevier Ltd: 767–84.
- Tjäderhane, L., MR Carrilho, Lorenzo Breschi, R. F. Tay, & D. H. Pashley. 20012. Dentin Basic Structure and Composition—an Overview. *Endodontic Topics* 20:3–29.
- Tohyama, C., Himeno, S.I., & Watanabe, C. 1986. The Relationship of the Increased Level of Metallothionein with Heavy Metal Levels in the Tissue of the Harbor Seal (*Phoca vitulina*) *Ecotoxicology and Environment Safety* 94: 85–94.
- Tvinnereim, H. M., Eide R., Riise T., Fosse G. & Wesenberg G. R. 1999. Zinc in Primary Teeth from Children in Norway. *Science of The Total Environment* 226 (2-3): 201–12.
- Triffitt, J T. 1985. Receptor Molecules, Coprecipitation and Ion Exchange Processes in the Deposition of Metal Ions in Bone. In *Metals in Bone*. N D Priest (Ed). 3–20.

- Tokar, E.J, Boyd, W. A, Freedman, J.H. & Waalkes, M. P. 2013. Toxic Effects of Metals. En: *Casarett and Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons*. D. E Klassen (Ed). McGraw-Hill. 981-1030
- Underwood, E. J. 1977. *Trace Elements in Human Nutrition*. Nueva York: Academic Press.
- Uruguay XXI 2016, Informes comerciales
<http://www.uruguayxxi.gub.uy/exportaciones/informes-comerciales/> Revisada en febrero 2016
- Valdivia, M. 2015. Evaluación de la calidad ecológica del estuario del Río de la Plata y plataforma continental adyacente basado en la comunidad de peces. Tesina de Licenciatura. Universidad de la República
- Vales, D.G., Saporiti, F., Cardona, L., De Oliveira, L.R., Dos Santos, R. a., Secchi, E.R., Aguilar, A. & Crespo, E., 2013. Intensive fishing has not forced dietary change in the South American fur seal *Arctophoca (=Arctocephalus) australis* off Río de la Plata and adjoining areas. *Aquatic Conservation: Marine Freshwater Ecosystem*. 24(6):745-759
- Van de Vijver, K. I., Hoff, P. T., Das, K., Van Dongen, W., Esmans, E. L., Jauniaux, T., Bouqueneau, J.M., Blust, R. & de Coen, W. 2003. Perfluorinated chemicals infiltrate ocean waters: link between exposure levels and stable isotope ratios in marine mammals. *Environmental science & technology*. 37 (24):5545–50.
- Van Heeckeren, A. & Skoch, E.J., 1987. Potential heavy metal influence on the death of several species of pinnipeds. *Proceedings of the International Association of Aquatic Animal Medicine* 18, 51e61
- van Wijngaarden, E., Campbell, J.R. & Cory-Slechta. D.A 2009. Bone Lead Levels Are Associated with Measures of Memory Impairment in Older Adults. *Neurotoxicology* 30 (4): 572–80.
- Vander Zanden, M. & W. Fetzer, W. 2007. Global patterns of aquatic food chain length. *Oikos*, 116(8), 1378–1388
- Vaz-Ferreira, R., 1981. South American sea lion *Otaria flavescens* (Shaw, 1800), En: *Handbook of Marine Mammals, The Walrus, Sea lions, fur seals, and Sea Otter*. Ridgway, S.H., Harrison, R. (Eds.), Academic Press, Londres, 39-63
- Vest, K. E., Hashemi H. F & Cobine P.A 2013. The Copper Metallome in Eukaryotic Cells. *Metallomics and the Cell*. A. Sigel, H. Sigel & R.K.O Sigek (Eds). Springer 609 p.
- Viana, F., Huertas, R. & Danulat, E., 2005. Heavy metal levels in fish from coastal waters of Uruguay. *Archives of environmental contamination and Toxicology* 537, 530–537.
- Vincent, J. B. 2013. Chromium: Is It Essential, Pharmacologically Relevant, or Toxic? In: *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. Metal Ions in Life Sciences*. Sigel, A., Sigel, H & Sigel R.K. (Eds). 171-198.
- Wagemann, R, & Stewart R.E.A. 1988. Trace Metals and Methyl Mercury: Associations and Transfer in Harp Seal (*Phoca groenlandica*) Mothers and Their Pups. *Marine Mammal Science* 4 (4): 339–55.

- Wakamura, M., Kazuhiko K., & Tatsuo I. 2000. Surface Structure and Composition of Calcium Hydroxyapatites Substituted with Al (III), La (III) and Fe (III) Ions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 164: 297–305.
- Walach, S. & Verch R. L. 1984. Chromium exchange in the rat skeleton. In: *Metals in Bone*. Pirest N.D (Ed). MTP Press Limited. Francia. 373-384
- Walsh T., Sandstead H., Prasad A.S., Newberne P.& Fraker .P. J. 1994 Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. *Environmental Health Perspectives* 1994; 102(2): 5-46
- Watanabe, I., Tanabe S., Amano M., Miyazaki N., Petrov, E. A. & Tatsukawa, R. 1998. Age-Dependent Accumulation of Heavy Metals in Baikal Seal (*Phoca sibirica*) from the Lake Baikal. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35: 518–26
- Webb, E., Amarasiriwardena, D., & Tauch, S. 2005. Inductively coupled plasma-mass (ICP-MS) and atomic emission spectrometry (ICP-AES): versatile analytical techniques to identify the archived elemental information. *Microchemical Journal*, 81(2), 201–208.
- Weise, M. J., Harvey, T.J & Costa D.P. 2010. The Role of Body Size in Individual-Based Foraging Strategies of a Top Marine Predator. *Ecology* 91 (4): 1004–15.
- Wenzel, C., Adelung, D., Kruse, H., & Wassermann, O. 1993. Trace Metal Accumulation in Hair and Skin of the Harbour Seal, *Phoca Vitulina* *Marine Pollution Bulletin* 26 (3): 152–55.
- Windisch, W. 2001 Homeostatic reactions of quantitative Zn metabolism on deficiency and subsequent repletion with Zn in Zn-65-labeled adult rats. *Trace elements and electrolytes* 18:122–8.
- Woshner, V M, O’Hara T M, Bratton G R & Beasley V R. 2001 a. Concentrations and Interactions of Selected Essential and Non-Essential Elements in Ringed Seals and Polar Bears of Arctic Alaska. *Journal of Wildlife Diseases* 37 (4): 711–21.
- Woshner, V M, O’Hara T M, Bratton G R, Suydam R S & V R Beasley. 2001 b Concentrations and Interactions of Selected Essential and Non-Essential Elements in Bowhead and Beluga Whales of Arctic Alaska. *Journal of Wildlife Diseases* 37 (4): 693–710.
- Yodzis, P. 2001. Must Top Pred Be Culled for Fisheries? *Trends in Ecology & Evolution* 16 (2). TRENDS in Ecology & Evolution. 16(2):76–84.
- Zeisler, R., Demiralp, R., Koster, B.J., Becker, P. R, Burow, M., Ostapczuk, P. & Wise, S.A.. 1993. Determination of Inorganic Constituents in Marine Mammal Tissues. *Science of the Total Environment* 139: 365–86.
- Zenteno, L., Crespo, E. A, Goodall N., Aguilar, A., de Oliveira L., Drago, M., Secchi E. R, Garcia, N & Cardona, L. 2013. Stable Isotopes of Oxygen Reveal Dispersal Patterns of the South American Sea Lion in the Southwestern Atlantic Ocean. *Journal of Zoology* 291 (2): 119–26
- Zenteno, L., Crespo, E.A., Vales, D., Silva, L., Saporiti, F., de Oliveira, L. R., Secchi, E. R., Drago, M., Aguilar, A. & Cardona, L. 2014. Dietary Consistency of Male South American Sea Lions (*Otaria flavescens*) in Southern Brazil during Three Decades Inferred from Stable Isotope Analysis. *Marine Biology*. 162 (2): 275–89.

- Zhitkovich, A. 2011. Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. *Chemical Research in Toxicology* 24 (10): 1617–29
- Zhou, J. L., Salvador, S. M., Liu, Y. P. & Sequeira, M. 2001. Heavy Metals in the Tissues of Common Dolphins (*Delphinus delphis*) Stranded on the Portuguese Coast. *The Science of the Total Environment* 273 (1-3): 61–76.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J. & Jiang, G., 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* 606, 135–50.

Anexo

Se muestra la distribución de individuo por edad para *A. australis* y *O. flavescens* (Fig 1). El rango de edades abarca desde 2 a 14 años. En la Figura 2 se muestra la distribución de individuos de acuerdo a su año de vida promedio para todo el período de estudio.

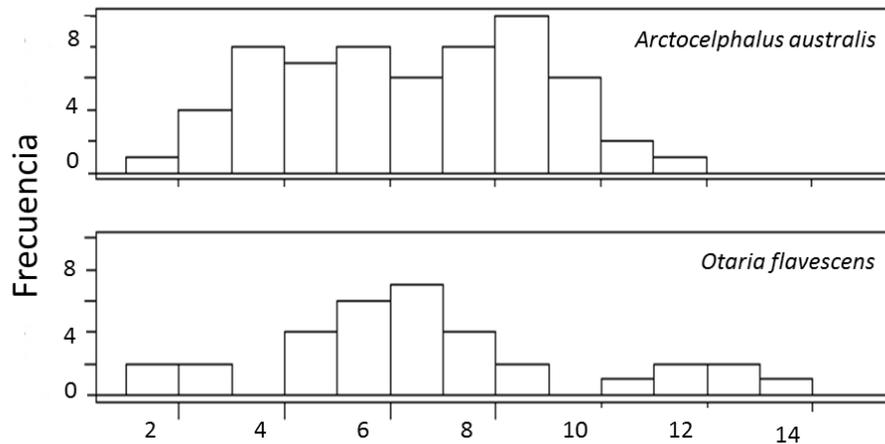


Figura 1. Frecuencia de individuos para cada edad para *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens*.

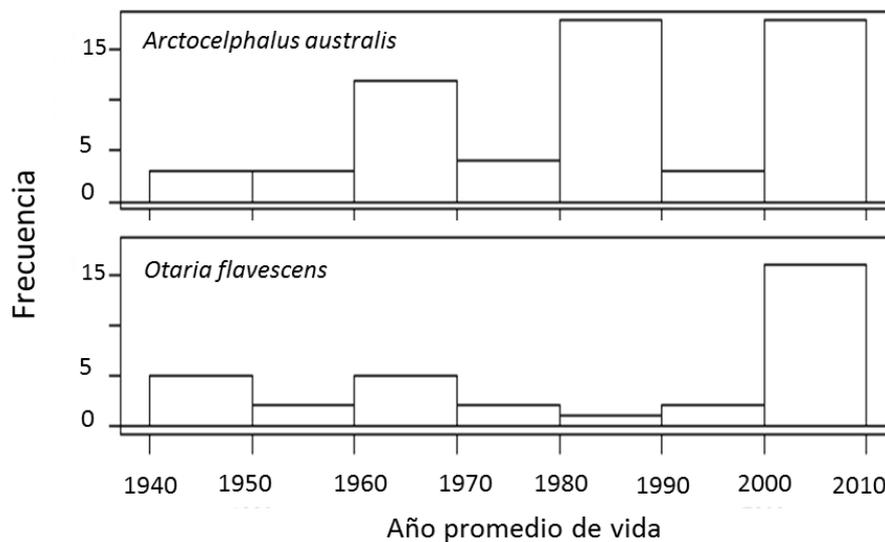


Figura 2. Frecuencia de individuos para cada década agrupados por el año promedio de vida para *Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens*.

Con respecto a los análisis exploratorios, las figuras 3 y 4 muestran los realizados con el comando XYPLOT de cada elemento traza con respecto al tiempo. Todos los elementos parecieron mostrar una tendencia constante en el tiempo, aunque con gran dispersión, salvo el caso del Cr (Fig 4b). Para este elemento traza en el GLM posterior se incluyó la variable año promedio de vida, como variable explicativa con una función polinómica de segundo orden. Además parecería que *Otaria flavescens* presenta concentraciones mayores de dicho elemento que *Artcocephalus australis*. En el caso de la concentración del Fe, Al, Mn y Ni la distribución de individuos de ambas especies fue homogénea, no se observaron tendencias diferentes entre especies en el tiempo (Fig 3 a, c, d, e y 4a). Para el Zn se también se observó una distribución homogénea de en el tiempo (Fig 3 b), aunque parecería que *A. australis* presenta concentraciones mayores de este elemento que *O. flavescens*. Lo opuesto se observó en el Cu, parecería que *O. flavescens* presenta concentraciones mayores (Fig. 3 f). Para el Cd y el Pb se observaron posibles diferencias en la concentración entre especies y éstas fueron constantes a lo largo del tiempo (Fig. 4c y d). La concentración de Cd pareció ser mayor en *A. australis* que en *O. flavescens*, mientras que para el Pb ocurriría lo contrario.

Por otra parte, se muestran los análisis exploratorios de las variables explicativas retenidas en los modelos. En la figura 5 a y b se observó una aparente relación lineal entre las señales de C y N con el Cu. También se muestra una posible relación del Cr con el sexo y la señal de N (Fig 5 c y d). Asimismo, se observaron posibles diferencias en los sexos y un posible aumento lineal con la señal de N. En cuanto al Cd, presentó posibles diferencias en cuanto a los sexos y un aumento lineal de su concentración con la disminución de la señal de C (Fig 5 e y f). Por último, se observaron posibles relaciones lineales entre el Pb y la señal del $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (Fig. 6 a y b) como también diferencias en los sexos (Fig. 6c). En los casos que las posibles variables explicativas fueron las señales isotópicas de C y N, se observó una notoria superposición entre ambas especies. Adicionalmente, se observó en todos los gráficos, individuos pertenecientes a las dos especies pero con igual señal de C o N que presentaron concentraciones muy similares del elemento traza analizado. Analizar ambas especies en conjunto ya que presentan segregación trófica aunque con cierta suposición, permite observar éstos individuos cuya

concentración del elemento traza parecería estar determinada más fuertemente por la dieta que la especie a la que pertenece. Si se considerara la especie como variable discreta muy probablemente en alguno de los elementos se encontrarán diferencias significativas pero estos casos que muy probablemente den cuenta a la variación observada se perderían. En todos los casos los valores más bajos en las señales de C y N corresponden a *A. australis*. Además, se observaron tendencias lineales similares en ambas especies lo que permitió analizarlas en conjunto con respecto a la misma variable explicativa.

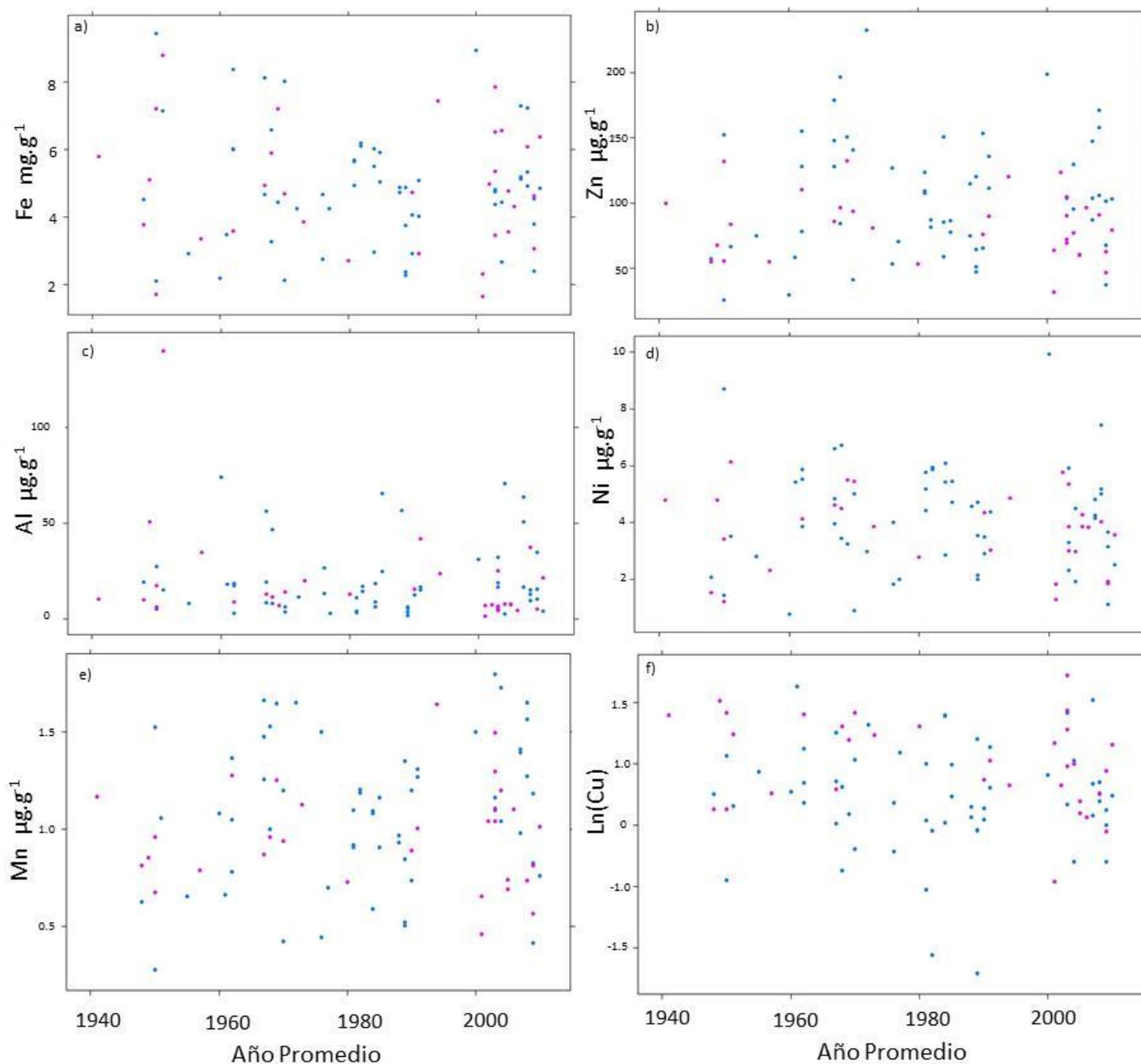


Figura 3. Gráficos XY de la concentración de elementos traza en función del tiempo (Año promedio de vida) para ambas especies de pinnípedos de la costa uruguaya, *Otaria flavescens* en rosado y en azul *Artcocephalus australis* durante 7 décadas. a) Hierro (Fe en mg.g^{-1}), b) Zinc (Zn $\mu\text{g.g}^{-1}$), c) Aluminio (Al $\mu\text{g.g}^{-1}$), d) Níquel (Ni $\mu\text{g.g}^{-1}$), e) Manganese (Mn $\mu\text{g.g}^{-1}$) y f) Logaritmo de Cobre (Ln(Cu)).

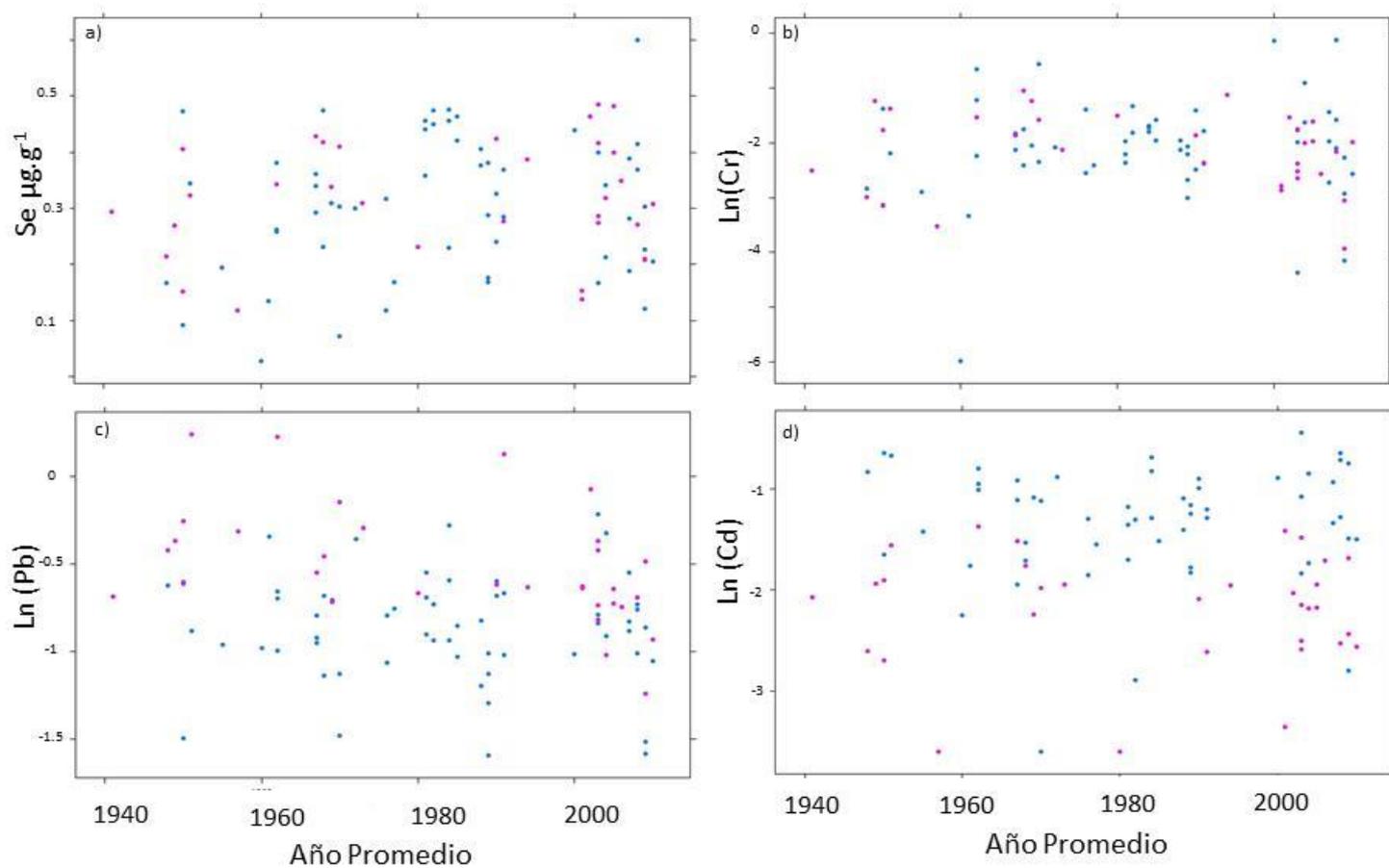


Figura 4. Graficos XY de la concentración de elementos traza en función del tiempo (año promedio de vida) para ambas especies de pinnípedos de la costa uruguaya, *Otaria flavescens* en rosado y en azul *Artcocephalus australis* durante 7 décadas. a) Selenio (Se en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), b) Logaritmo de Cromo (Ln(Cr), c) Logaritmo de Plomo (Ln (Pb)) y d) Logaritmo de Cadmio (Ln(Cd))

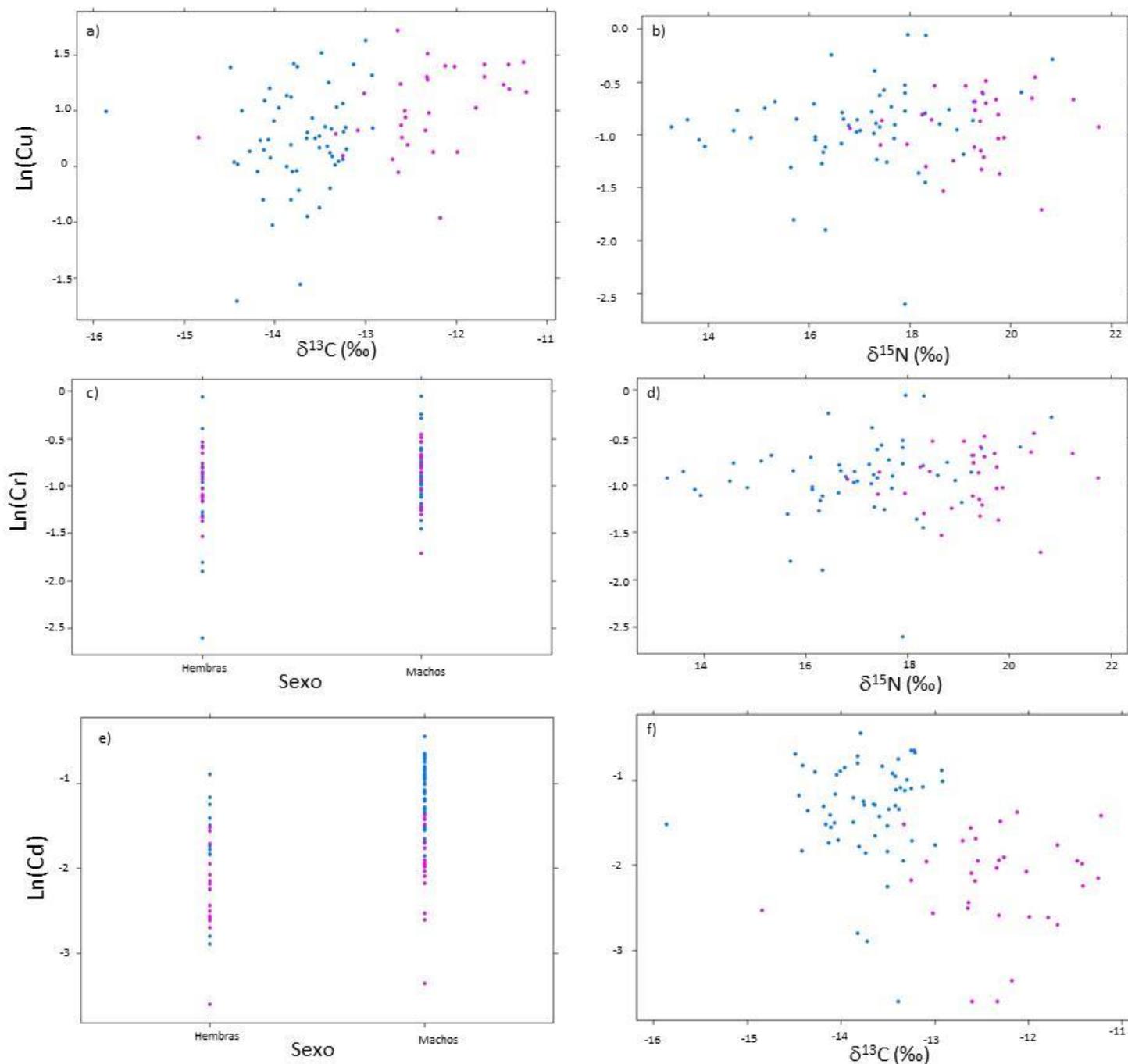


Figura 5. XYPLOT de la concentración de elementos traza en función de a) Logaritmo de Cobre (Ln(Cu)) en función de la señal de $\delta^{13}\text{C}$ (‰), b) Logaritmo de Cobre (Ln(Cu)) en función de la señal de $\delta^{15}\text{N}$ (‰), c) Logaritmo de Cromo (Ln(Cr)) en función del sexo, d) Logaritmo de Cr (Ln(Cr)) en función de la señal de $\delta^{15}\text{N}$ (‰), e) Logaritmo de Cadmio (Ln(Cd)) en función del sexo y f) Logaritmo de Cadmio (Ln(Cr)) en función de la señal de $\delta^{13}\text{C}$ (‰). Para todos los gráficos se muestran en rosado *Otaria flavescens* y en azul *Artcocephalus australis* para la costa uruguaya durante 7 décadas.

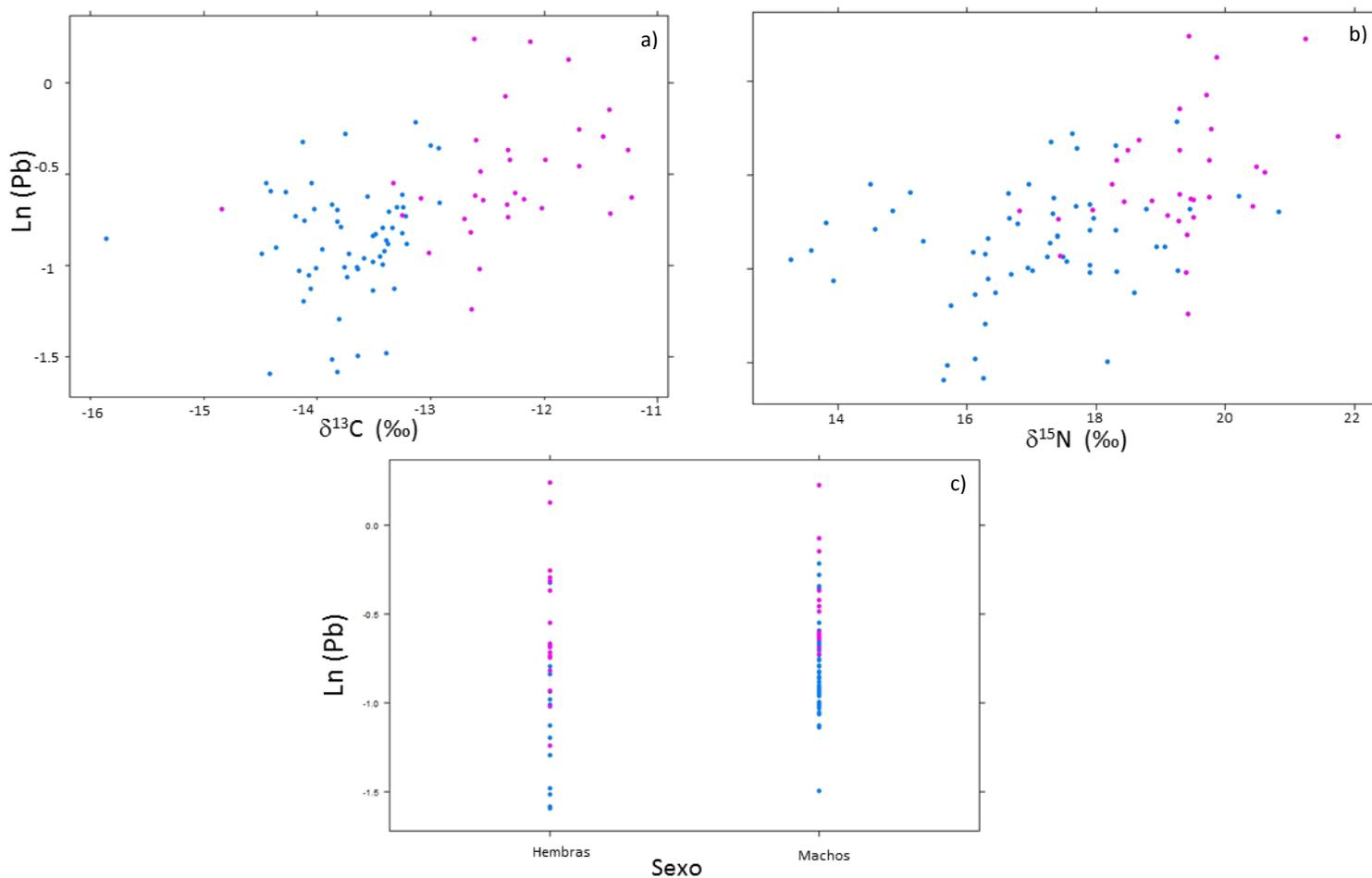


Figura 6. XYPLOT de la concentración del Logaritmo de Plomo (Ln (Pb)) en función de: a) la señal de $\delta^{13}\text{C}$ (‰), b) la señal de $\delta^{15}\text{N}$ (‰) y c) en función del sexo. Para todos los gráficos se muestran en rosado *Otaria flavescens* y en azul *Artcocephalus australis* para la costa uruguaya durante 7 décadas.