

# **Biodisponibilidad de metales traza en playas del Río de la Plata**

Tesina de Licenciatura en Ciencias Biológicas  
Profundización en Ecología

*Bach. Delfina Castiglioni*

*Orientador: Javier García-Alonso*

*Tribunal evaluador: Diego Lercari, Javier García-Alonso y Pablo Muniz*

Montevideo, Uruguay, Julio 2015

Agradezco a mi familia, fuente de apoyo constante e incondicional.

A Diego, por todo el apoyo que me ha brindado y sobre todo por su paciencia y compañía.

A mis amigos que han llenado esta etapa de experiencias que no olvidaré.

Agradezco de manera especial a Javier por su paciencia (much!) y siempre buena disposición para transmitir sus conocimientos y experiencia.

A Diego Lercari por su participación en los muestreos y a Pablo muniz y Diego Lercari por sus correcciones y comentarios constructivos.

A Carlos Rezende y el técnico Marcelo Gomes de Almeida por los análisis con ICP-OES en la UENF, RJ. A Phillip Rainbow y el técnico Stanislav Strekopitov por los análisis con ICP-MS en el Trace Metal Laboratory del National History Museum of London.

## Resumen

Algunas especies de poliquetos habitan en los ecosistemas estuarinos, y son predados por comunidades acuáticas (peces y crustáceos) y terrestres (aves marinas). *Laeonereis acuta* (Nereididae), es una especie detritívora que habita en el intermareal costero estuarino a lo largo de la costa Atlántica de América del Sur. Los poliquetos pueden acumular metales y por lo tanto representar una vía de entrada de los mismos a la trama trófica costera. En el presente trabajo, se determinó la concentración de cinco metales (Zn, Pb, Cu, Cr y Cd) en poliquetos y sedimentos (fracciones totales y biodisponibles) en seis playas estuarinas del Río de la Plata. Se analizó la relación entre las fracciones totales y biodisponibles respecto a aquellas encontradas en poliquetos para determinar la acumulación de cada elemento. Se evaluó la digestión con HCl 1N como método de cuantificación de metales biodisponibles en sedimento. El metal más abundante fue el Zn en *L. acuta* así como en sedimento, mientras que Cd fue el menos abundante ( $<0.5 \mu\text{g/g}$ ) y los niveles de metales no esenciales como el Pb indicarían contaminación costera en Playa Ramírez y Playa Cerro. Cu y Zn fueron bioacumulados en *L. acuta*, según los factores de acumulación biota-sedimento (BSAF). Los análisis estadísticos realizados evidenciaron diferencias significativas en la acumulación de metales en las distintas playas según el metal, así como un mejor ajuste a un modelo lineal al utilizar las concentraciones en sedimento biodisponibles y no las totales, respecto a las encontradas en poliquetos. La alta asociación entre metales en sedimento y poliquetos, denota el rol de *L. acuta* como un importante factor en la transferencia trófica de metales desde los sedimentos hacia los peces y aves.

# Contenido

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Introducción</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1      | Metales . . . . .  | 1         |
| 1.1.1    | Metales traza . . . . .  | 1         |
| 1.1.2    | Metales traza en ambientes acuáticos . . . . .                     | 4         |
| 1.1.3    | Metales en ambientes estuarinos . . . . .                          | 9         |
| 1.2      | Poliquetos . . . . .   | 10        |
| 1.2.1    | Generalidades . . . . .  | 10        |
| 1.2.2    | Poliquetos nereididos como biomonitores de contaminación . . . . . | 11        |
| 1.3      | Metales biodisponibles a la trama trófica costera . . . . .        | 13        |
| <b>2</b> | <b>Objetivos</b>   | <b>16</b> |
| 2.1      | Objetivo general . . . . .   | 16        |
| 2.2      | Objetivos específicos . . . . .                                    | 16        |
| <b>3</b> | <b>Materiales y Métodos</b>  | <b>17</b> |
| 3.1      | Área de estudio . . . . .  | 17        |
| 3.2      | Métodos de muestreo . . . . .                                      | 19        |
| 3.3      | Cuantificación de metales . . . . .                                | 20        |
| 3.4      | Factores de acumulación biota-sedimento (BSAF) . . . . .           | 21        |
| 3.5      | Análisis de datos . . . . .  | 22        |
| 3.5.1    | Concentración de metales . . . . .                                 | 22        |
| 3.5.2    | Análisis estadísticos . . . . .                                    | 22        |
| <b>4</b> | <b>Resultados</b>  | <b>25</b> |

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 4.1      | Variables físico-químicas . . . . .                                     | 25        |
| 4.2      | Concentraciones de metales . . . . .                                    | 26        |
| 4.3      | Acumulación relativa en <i>L. acuta</i> . . . . .                       | 29        |
| 4.4      | Asociación entre metales acumulados en poliquetos y sedimento . . . . . | 30        |
| <b>5</b> | <b>Discusión</b>  | <b>34</b> |
| 5.1      | Variables físico-químicas . . . . .                                     | 34        |
| 5.2      | Concentraciones de metales . . . . .                                    | 35        |
| 5.2.1    | Cadmio . . . . .  | 36        |
| 5.2.2    | Cromo . . . . .   | 37        |
| 5.2.3    | Cobre . . . . .   | 38        |
| 5.2.4    | Plomo . . . . .   | 38        |
| 5.2.5    | Zinc . . . . .  | 39        |
| 5.3      | Acumulación relativa en <i>L. acuta</i> . . . . .                       | 39        |
| 5.4      | Asociación de metales en sedimento y poliquetos . . . . .               | 40        |
| 5.5      | Metales disponibles en la trama trófica . . . . .                       | 41        |
| <b>6</b> | <b>Conclusiones</b>   | <b>43</b> |

# Índice de Figuras

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 1.1 | Procesos internos que afectan el estado de los metales en el sedimento. Las concentraciones de metal particulado son influenciadas por la concentración y especiación de los metales disueltos, por resuspensión, transporte y el asentamiento de los metales asociados al sedimento, por el flujo del agua de los poros hacia y desde el mismo y por el enterramiento de los sedimentos superficiales que pueden ser atrapados en las capas anóxicas más profundas (modificado de Luoma y Rainbow, 2008). | 6  |
| 1.2 | Poliqueto nereidido <i>Laeonereis acuta</i> (Treadwell, 1923), foto tomada en laboratorio de ejemplar in vivo anestesiado con cloruro de magnesio al 4% (foto: Javier García-Alonso).  | 12 |
| 1.3 | Fracciones subcelulares y metales disponibles en las mismas para la trama trófica (TAM). Modificado de Rainbow y Luoma (2008).   | 14 |
| 3.1 | Localización del área de estudio en Uruguay. La Playa Penino ubicada en San José, y las playas Punta Yeguas, Santa Catalina, Bahía de Montevideo, Ramírez y Pocitos (las últimas cuatro se encuentran incluidas en el área urbana de Montevideo, y Cerro muy cercana a la Refinería de ANCAP).   | 18 |
| 4.1 | Concentración de Cd (media $\pm$ error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, PQ).   | 26 |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 4.2 | Concentración de Cr (media $\pm$ error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD). . . . . | 27 |
| 4.3 | Concentración de Cu (media $\pm$ error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD). . . . . | 28 |
| 4.4 | Concentración de Pb (media $\pm$ error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD). . . . . | 28 |
| 4.5 | Concentración de Zn (media $\pm$ error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD). . . . . | 29 |

# Índice de Tablas

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 1.1 | Características de los metales bajo estudio (Luoma y Rainbow, 2008; Petts, 1997; King, 2011; Stern, 2010; Goldhaber, 2002). . . . .   | 3  |
| 1.2 | Fuentes antropogénicas de metales en el ambiente (Petts, 1997; Páez-Osuna, 2005; Navrátil y Minarik, 2005). . . . .   | 5  |
| 3.1 | Factores de enriquecimiento de las playas estudiadas en el presente trabajo según García-Alonso et al. (datos no publicados). Se encuentran resaltados los valores de al menos el doble de lo que normalmente se encontraría en la playa. . . . .   | 19 |
| 4.1 | Medidas de la salinidad, conductividad (k), temperatura (T), oxígeno disuelto (OD) y pH medidos en el agua. Tipo de grano (Tipo) en base a su rango de tamaño medio (Grano) en el sedimento. . . . .  | 25 |
| 4.2 | Factores de acumulación biota-sedimento (BSAF) a partir de las concentraciones totales y biodisponibles de metales en sedimento respecto a <i>L. acuta</i> . . . . .  | 30 |
| 4.3 | Valores de p en análisis de varianza de Kruskal-Wallis y de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni entre pares de playas para cada metal. . .  | 31 |
| 4.4 | Coefficientes de correlación de Pearson entre las concentraciones de metales traza encontradas en poliquetos y las concentraciones totales en sedimentos en primer lugar, y las encontradas en sedimento biodisponibles en segundo (los cálculos se realizaron a partir de la media de las concentraciones de cada una de las variables). . . . . | 32 |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 4.5 | Errores porcentuales asociados a los coeficientes de ajuste lineal (Error pendiente) y errores residuales de la regresión (SSreg), calculados para las regresiones entre poliquetos y sedimento total (TOT) y entre poliquetos y sedimentos biodisponibles (BD), para el Cr, Pb y Zn. Se incluyen los AIC para las dos mismas regresiones, calculados para el Cr, Cu, Pb y Zn. | 33 |
| 5.1 | Concentraciones de metales en el sedimento en diferentes sedimentos estuarinos. Las mayores concentraciones encontradas se resaltan en <b>negrita</b> y las menores en <b>negrita y cursiva</b> .  | 36 |
| 5.2 | Porcentaje de cada metal que se asocia a las distintas fracciones subcelulares en <i>H. diversicolor</i> según Dang et al., 2012.  | 41 |

# 1. Introducción

En el presente estudio se describe por primera vez la potencial entrada de metales en las tramas tróficas costeras del Río de la Plata, desde el sedimento (donde se acumulan los metales) al poliqueto nereidido *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923), y su potencial ingreso a los predadores de los mismos.

## 1.1 Metales

Los metales se definen como elementos que poseen una apariencia lustrosa característica, son buenos conductores de la electricidad, y generalmente entran en reacciones químicas en forma catiónica. A pesar de que se los suele considerar como poluentes, es importante reconocer que son sustancias naturales (Walker et al., 2012).

### 1.1.1 Metales traza

Se tiende a utilizar el término “metal traza” sin una definición estricta, sugiriendo una ocurrencia a bajas concentraciones (traza) en el ambiente (a veces definidas como menores a 0.01% del peso seco), tanto en los componentes físicos como bióticos, a pesar de que todos estos metales ocurren en elevadas concentraciones en los minerales y en casos excepcionales también en los organismos. El término se utiliza de forma sinónima a “metales pesados”, pero este último se refiere a metales por encima de un peso atómico umbral, lo cual incluye a todos los metales de transición, lantánidos y actínidos. Los metales traza son tóxicos para la biota cuando se encuentran presentes

en altas concentraciones biodisponibles y muchos de estos son esenciales para el metabolismo de los organismos (Rainbow, 2006). Es por esto que en el presente trabajo se utilizará el término Metal Traza, al poder considerarse todos los metales bajo estudio incluidos en el mismo. Algunas características básicas de estos metales se explicitan en la Tabla 1.1.

Los metales potencialmente tóxicos se pueden subdividir en dos categorías, los metales de transición, tales como el cobalto, cromo, cobre, manganeso y zinc, siendo los mismos esenciales para el metabolismo en bajas concentraciones, pero pudiendo ser tóxicos en concentraciones elevadas; y los metales y metaloides, tales como el plomo, cadmio, mercurio, arsénico, selenio y estaño, los cuales generalmente no son requeridos para el metabolismo (Páez-Osuna, 2005). La esencialidad de algunos metales se debe a su rol bioquímico en alguna vía metabólica debido a su afinidad por el azufre y nitrógeno, siendo esta misma afinidad la que vuelve a todos estos metales potencialmente tóxicos (Rainbow, 2006; Rainbow y Luoma, 2008). Pueden tener un rol esencial en las metaloproteínas, en las que el metal es una parte integrada a la proteína, requerida para la función de la misma, como el zinc en la anhidrasa carbónica y los dedos de zinc o el cobre en la hemocianina. Los metales esenciales más débilmente asociados a las proteínas activadas por los mismos, son necesarios para que éstas lleven a cabo sus funciones metabólicas, aunque pueden ser reemplazados por otro (Rainbow y Luoma, 2008).

**Tabla 1.1:** Características de los metales bajo estudio (Luoma y Rainbow, 2008; Petts, 1997; King, 2011; Stern, 2010; Goldhaber, 2002).

| Metal         | Características y propiedades  |
|---------------|--|
| <b>Cadmio</b> | <ul style="list-style-type: none"><li>• No esencial.</li><li>• pH bajos aumentan movilidad y toxicidad en el suelo.</li><li>• La disolución aumenta con la salinidad. Entre 5 y 10 de salinidad forma compuestos clorados.</li></ul>   |
| <b>Cromo</b>  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Esencial. Forma trivalente requerida para mantener el metabolismo de la glucosa normal.</li><li>• En su forma reducida Cr(III) posee una alta reactividad con superficies, formando precipitados insolubles bajo condiciones moderadamente ácidas o neutras, y encontrándose menos biodisponible.</li><li>• El Cr hexavalente, Cr(VI), es soluble y la forma más tóxica. Cr (VI) forma cromato o bicromato en ambientes óxicos. El cromato es muy soluble y la adsorción del mismo a las superficies de partículas es limitada ya que el ion tiene carga negativa.</li></ul> |
| <b>Cobre</b>  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Esencial. Cofactor catalítico en numerosas reacciones enzimáticas y componente de enzimas alostéricas.</li><li>• Comúnmente se encuentra como sulfato, sulfuro, y carbonatos en el suelo, o formando complejos orgánicos en el agua.</li></ul>   |
| <b>Plomo</b>  | <ul style="list-style-type: none"><li>• No esencial.</li><li>• Insoluble en agua. Asociado débilmente a ligandos en agua dulce por lo que puede ser co-floculado con hierro (Fe) cuando las aguas de los ríos alcanzan el mar. También se suele asociar al manganeso (Mn).</li></ul>   |
| <b>Zinc</b>   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Esencial. Catalizador para varias enzimas, posee rol estructural en los dedos de zinc y participa en la regulación de la expresión génica.</li><li>• Sus sales más simples son solubles en agua. Se lo suele encontrar formando complejos orgánicos en el agua.</li></ul>  |

### **1.1.2 Metales traza en ambientes acuáticos**

A lo largo del siglo XX, los ecosistemas costeros y estuarinos han sufrido un incremento en el impacto ambiental, debido a su uso como depósito para una gran variedad de desechos (Muniz et al., 2004a). El desarrollo urbano y la industrialización de las zonas costeras han promovido particularmente un incremento continuo en la contaminación por metales traza en ambientes estuarinos. Las potenciales fuentes antropogénicas de los metales bajo estudio se detallan en la Tabla 1.2.

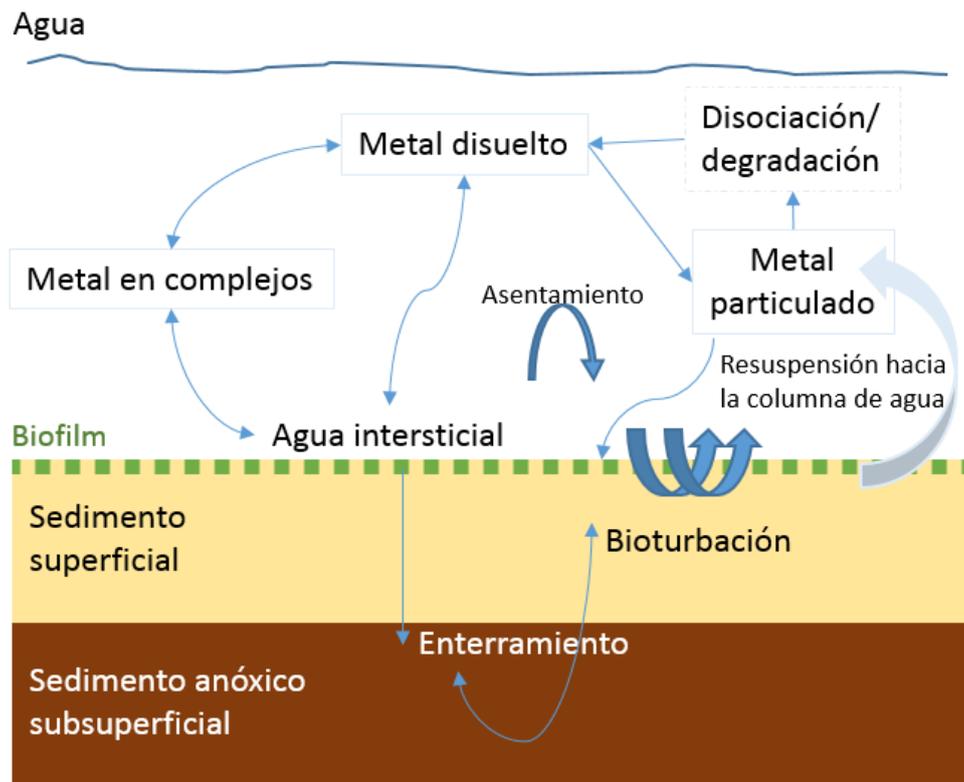
Los metales traza pueden ingresar a los ecosistemas marinos a través de diversas rutas, como la escorrentía superficial de la lluvia, descarga de ríos y arroyos, caída directa desde el aire al agua, resuspensión de sedimentos debido a la actividad de embarcaciones y dragado o por descarga de desechos del alcantarillado e industriales (Reisch, 1979).

Las concentraciones totales de metales solubles en un sistema, serán la suma del ion metálico libre, y los metales contenidos en complejos. En ambientes anóxicos o hipóxicos, ligandos como el hidróxido, carbonato, silicato, fosfato y el sulfuro son relevantes para la precipitación de los iones metálicos, siendo el sulfuro en el sedimento, el principal factor mitigante de la toxicidad de muchos metales. Los óxidos metálicos y la materia orgánica también pueden afectar esta partición (Allen, 1993).

**Tabla 1.2:** Fuentes antropogénicas de metales en el ambiente (Petts, 1997; Páez-Osuna, 2005; Navrátil y Minarik, 2005).

| Fuente                        | Cd | Cr | Cu | Pb | Zn |
|-------------------------------|----|----|----|----|----|
| Celulosa y papel              |    | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Petroquímica                  | ✓  | ✓  |    | ✓  | ✓  |
| Fertilizantes                 | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Refinerías de petróleo        | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Textil                        |    | ✓  |    |    |    |
| Curtiembres                   |    | ✓  |    |    |    |
| Plásticos                     | ✓  | ✓  |    | ✓  | ✓  |
| Baterías                      | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Pinturas o pigmentos          | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Automotriz                    | ✓  | ✓  | ✓  |    |    |
| Fundición no ferrosa          | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Producción de hierro y acero  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Efluentes de minería          | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  |
| Preservadores de madera (CCA) |    | ✓  | ✓  |    |    |
| Lodos de aguas servidas       | ✓  | ✓  | ✓  |    | ✓  |

Los metales se encuentran en un constante equilibrio químico entre el sedimento, el agua intersticial, la columna de agua y la biota según las condiciones biogeoquímicas del cuerpo de agua (Fig. 1.1) (Luoma y Rainbow, 2008). A un pH cercano al neutro (como el que se encuentra en la mayoría de los cuerpos de agua naturales), la partición de los metales entre las fases sólida y en solución, favorece fuertemente al material particulado (la concentración en partículas excede la concentración en solución por varios órdenes de magnitud), por lo que el sedimento y el material particulado son los mayores reservorios de metales en un cuerpo de agua (Rainbow, 2010). En los estuarios, éste material particulado es una mezcla compleja de materia orgánica y fases inorgánicas derivadas de las rocas erosionadas de la cuenca local (Rainbow et al., 2009). Metales como Ag, Cd, Zn y Cr son asimilados de forma más eficiente desde el material particulado suspendido o desde sedimentos con alto contenido de materia orgánica, y en general, más eficientemente de ligandos orgánicos que de inorgánicos (Lee et al., 1998; Harvey & Luoma, 1985; Decho & Luoma, 1994).



**Figura 1.1:** Procesos internos que afectan el estado de los metales en el sedimento. Las concentraciones de metal particulado son influenciadas por la concentración y especiación de los metales disueltos, por resuspensión, transporte y el asentamiento de los metales asociados al sedimento, por el flujo del agua de los poros hacia y desde el mismo y por el enterramiento de los sedimentos superficiales que pueden ser atrapados en las capas anóxicas más profundas (modificado de Luoma y Rainbow, 2008).

Los metales deben encontrarse biodisponibles para ser asimilados por los organismos presentes en el ambiente. Luoma y Rainbow (2008) definen a los metales biodisponibles como una medida relativa de aquella fracción del total de metales en el ambiente que un organismo asimila, sumado a través de todas las posibles fuentes de entrada, incluyendo el agua y alimento según sea apropiado. Es por esto que una alta concentración de un metal no necesariamente significa una alta biodisponibilidad, pudiendo ser prácticamente inofensiva para los organismos, mientras que bajas concentraciones de otro metal pueden encontrarse muy biodisponibles y resultar en una acumulación considerable y tóxica (Timmermans, 1993).

Los organismos acuáticos son capaces de acumular metales del ambiente por medio de distintas rutas, como el epitelio digestivo o por difusión a través de la superficie

corporal y respiración. Luego de su absorción, los metales son transportados a los órganos internos para su utilización, reserva, detoxificación y posterior excreción (Ahlf et al., 2009).

Cuando entran en el organismo, los metales traza que se encuentran disponibles pueden unirse a cualquier sitio o ligando cercano por el cual tengan afinidad. Los efectos adversos ocurren cuando un metal traza sustituye a otro en una proteína y bloquea el sitio activo catalítico de una metaloproteína. Otra posibilidad es que el metal se una en otro lugar de la proteína ejerciendo un efecto estérico que distorsione la geometría de la misma, impidiendo su acción metabólica normal. Es por esto que todos los metales traza son potencialmente tóxicos para los seres vivos, incluyendo los metales traza esenciales cuando se encuentran en exceso (Luoma y Rainbow, 2008).

Las características físico químicas del medio afectan la partición de los metales en el mismo, así como la especiación de los metales en el sedimento. Las concentraciones totales de metales en suelos y sedimentos tienden a variar según la granulometría del mismo. En las partículas con tamaños menores a 63  $\mu\text{m}$  se suelen encontrar mayores concentraciones, mientras que la fracción de arena fina normalmente posee menores concentraciones al encontrarse dominada por componentes de cuarzo. Por otro lado las fracciones más gruesas pueden contener minerales de metales por lo que pueden generar nuevamente un incremento del contenido de los mismos (Kersten, 2002).

En cuanto a la salinidad, se ha observado que el estrés generado por altas temperaturas, en combinación con una baja salinidad, actúan en sinergia incrementando la toxicidad de los metales. El mayor impacto de metales como el Cd y Cu a bajas salinidades, seguramente surge del aumento de sus formas iónicas libres,  $\text{Cd}^{2+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ . En el caso del Cu, se ha observado que aun cuando la actividad del ion cúprico se mantuviera constante, la biodisponibilidad de Cu aumentaría con bajas salinidades (Bryan y Langston, 1992).

Cuando el pH y oxígeno disuelto son altos (alrededor de 8.0 y 8.0 mg/L respectivamente), o incluso a pH neutro, las tasas de oxidación son más rápidas, y por lo tanto también lo es la tasa de precipitación de metales, lo que genera una mayor concentración de metales

en el sedimento, incluso con perturbaciones físicas importantes. A pH bajo (5.5-6) se observa una liberación de los metales en forma iónica más importante, sin embargo, las instancias de pH bajo en ambientes naturales son poco comunes (Atkinson et al., 2007). El análisis de los sedimentos puede ser particularmente útil en la detección de las fuentes de contaminación y en la selección de sitios críticos para el muestreo rutinario de contaminantes que están siendo descargados en las aguas y que no permanecen disueltos debido a que son rápidamente adsorbidos por el material particulado, pudiendo así escapar a la detección en el análisis de agua (Páez-Osuna, 2005). Generalmente las concentraciones de metales traza en el sedimento superan en tres a cinco órdenes de magnitud a las del agua suprayacente. La biodisponibilidad de una pequeña fracción del metal presente en los sedimentos asume una gran importancia, especialmente para algunos organismos sedimentívoros o detritívoros. Metales como el Hg y Pb pueden incluso transformarse en organometales en el sedimento, por lo que poseerían una mayor biodisponibilidad y toxicidad (Bryan y Langston, 1992).

A pesar de que se ha demostrado en varios estudios la correlación entre especiación de contaminantes ambientales y su biodisponibilidad, esta información se ha utilizado de forma limitada respecto a la especiación a nivel molecular, a la hora de ajustar los niveles de contaminantes máximos permitidos (Brown et al., 1999), más allá de que la significancia de la biodisponibilidad ha sido ampliamente aceptada (Calace et al., 2006). La comunidad científica reconoce que la medida de la concentración total no es un estimador preciso de la biodisponibilidad, sino que la toxicidad de una sustancia está controlada por su especiación. Por lo tanto, las regulaciones basadas en concentraciones absolutas pueden ser convenientes, pero su validez científica cuestionada (Traina y Laperche, 1999). Por otro lado, los estándares de calidad ambiental referidos a los sedimentos están actualmente ganando atención, debido a la mayor concientización actual de que un buen estatus ambiental solo puede alcanzarse si la calidad del sedimento es evaluada e integrada en la evaluación de la calidad ambiental (Crane, 2003).

### **1.1.3 Metales en ambientes estuarinos**

Los estuarios representan un hábitat en riesgo, ya que a pesar de poseer una alta productividad e importante biodiversidad, siendo áreas costeras cruciales para la historia de vida de muchas aves, peces e invertebrados, son ambientes que se encuentran intensamente sujetos a actividades antropogénicas, recibiendo efluentes tóxicos desde ríos, arroyos y por escorrentía (García-Alonso et al., 2011). Estos son trasladados de fuentes remotas o cercanas como las domésticas, agrícolas e industriales. Es por esto que los organismos costeros y estuarinos que ya deben adaptarse a condiciones naturales muy cambiantes, también deben hacer frente a los ingresos de poluentes de estos ambientes (Durou et al., 2004; Sun y Zhou, 2008; Zhou et al., 2003).

Los metales pueden encontrarse presentes en los sistemas estuarinos como especies disueltas, iones libres, o formando complejos orgánicos con ácidos húmico y fúlvico (Spencer y MacLeod, 2002). En los sedimentos estuarinos, la concentración y bio-disponibilidad dependen de diversos procesos, como por ejemplo la movilización de metales al agua intersticial, su especiación química, la posible transformación (e.g. metilación) de algunos metales o el control ejercido por los componentes principales del sedimento como óxidos de hierro y sustancias orgánicas, ya que los metales se asocian preferentemente a los mismos (Bryan y Langston, 1992). Otros factores son la competencia entre metales del sedimento por sitios de unión en el organismo, o también la influencia de la bioturbación, salinidad, o pH (Bryan y Langston, 1992). Esto aporta mayor evidencia de que la especiación o forma química del elemento, es una característica clave para conocer las concentraciones que un organismo puede potencialmente asimilar y acumular.

Los ecosistemas estuarinos se caracterizan por la interacción entre los organismos y las variaciones en salinidad, corrientes, partículas suspendidas, sedimentos, temperatura, exposición al aire, oxígeno disuelto, contaminantes y la biodiversidad. En estuarios, la trama trófica se encuentran dominada por invertebrados (Ducrotoy, 2010) y dentro de la comunidad macrobentónica, los poliquetos nereididos se encuentran ampliamente representados en estos ambientes.

## 1.2 Poliquetos

### 1.2.1 Generalidades

Los poliquetos son gusanos segmentados y deben su nombre a que generalmente poseen un gran número de quetas, las cuales usualmente surgen desde extensiones laterales apareadas del cuerpo (parapodios). Los poliquetos son una clase perteneciente al phylum Annelida, que también incluye a los oligoquetos e hirudíneos. Los poliquetos adultos pueden medir desde menos de 1 mm hasta más de 1 m de largo (Reisch, 1979). Son organismos infaunales y epifaunales dominantes de las comunidades estuarinas y marinas, encontrándose presentes en todas las regiones oceánicas del mundo y en toda clase de hábitats (Reisch, 1979; de la Lanza-Espino et al., 2000). Poseen una gran relevancia para los ecosistemas donde se encuentran al ser ítems alimenticios tanto de comunidades acuáticas (peces y crustáceos), como terrestres (aves costeras) (Petti, 1996; Botto et al., 1998; de la Lanza-Espino et al., 2000). Además, los hábitos alimenticios de los poliquetos tienen un rol importante en el movimiento de los sedimentos (bioturbación), afectando las características del mismo como la distribución del tamaño de grano, la captura de partículas y la aireación del suelo por debajo de la capa superior, ya que modifican el ambiente al crear tubos oxigenados en el sedimento anóxico intermareal (Reisch, 1979; Sizmur et al., 2013). Estos organismos han sido utilizados tanto para el monitoreo de polución por metales como en estudios ecotoxicológicos (Bryan y Langston, 1992; Geracitano et al., 2002; Rainbow et al., 2009; García-Alonso et al., 2011). Los poliquetos ofrecen una visión comparativa de las fuentes biodisponibles de metales en hábitats marinos, ya que distintas familias de poliquetos exhiben variedad de hábitos alimenticios y ocupan gran cantidad de nichos ecológicos (Rainbow, 1995).

## 1.2.2 Poliquetos nereididos como biomonitores de contaminación

La familia Nereididae está integrada por especies marinas y estuarinas, entre ellas especies cosmopolitas como *Alitta succinea* (Leuckart, 1847), o *Alitta (Nereis) virens* (Sars, 1835) y *Hediste (Nereis) diversicolor* (Müller, 1776) en Europa o el complejo *Laeonereis* spp. que incluye especies como *Laeonereis culvieri* (Webster, 1879), *Laeonereis pandoensis* (Monro, 1937) y *Laeonereis acuta* (Fig. 1.2) en América. Se suele utilizar a la especie *H. diversicolor*, a la que se considera como una especie clave ecológicamente, como biomonitor de contaminación en sedimentos. Las concentraciones de metales traza acumuladas por *H. diversicolor* se correlacionan significativamente con aquellas de los sedimentos superficiales (Luoma y Rainbow, 2008). A pesar de tener diferencias en su ciclo de vida y biomasa anual (Omena y Amaral, 2000), esta especie es muy similar al poliqueto nereidido *Laeonereis acuta*, una especie infaunal que puede ser encontrada en estuarios a lo largo de la costa atlántica de América del Sur, desde Recife, hasta la Península de Valdés en Argentina (Omena y Amaral, 2001). Estudios previos caracterizaron a *L. acuta* como una especie sedimentívora que posee poca movilidad, por lo cual refleja las condiciones locales del sedimento en que vive (Bemvenuti, 1998). En Uruguay, se ha confirmado la presencia de *L. acuta* en playas estuarinas (Alexander Muir, comunicación personal) y habita en el sedimento intermareal del Río de la Plata (Giménez et al., 2005; Lercari y Defeo, 2015), representando una potencial vía de entrada de contaminantes a la red trófica costera lo que lo hace un organismo adecuado para estudiar procesos de bioacumulación de metales traza en estos ambientes.



**Figura 1.2:** Poliqueto nereidido *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923), foto tomada en laboratorio de ejemplar in vivo anestesiado con cloruro de magnesio al 4% (foto: Javier García-Alonso).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son producidas por los organismos vivos como resultado del metabolismo celular normal. En concentraciones bajas a moderadas, funcionan en procesos celulares fisiológicos, pero en concentraciones altas, producen modificaciones adversas de los componentes celulares, como los lípidos, proteínas y ADN. Se denomina estrés oxidativo al cambio en el balance entre oxidantes/antioxidantes en favor de los oxidantes (Sahiner y Cansin, 2012). Los metales estudiados en el presente trabajo representan poluentes ambientales con potencial actividad pro-oxidativa (Bocchetti et al., 2004), por lo que los organismos han desarrollado una variedad de mecanismos para lidiar con los metales internalizados. La toxicidad de los mismos ocurre cuando la tasa de entrada al organismo supera la combinación de las tasas de excreción y detoxificación del mismo generando estrés oxidativo (Rainbow, 2002).

En el caso de los poliquetos sedimentívoros como *L. acuta* (Bemvenuti, 1998), la ruta de ingreso es directa desde el sedimento, ya que se alimenta del biofilm. Este incluye los primeros 5 mm aproximadamente de sedimento, donde se acumulan detritos y donde existe una comunidad microbiana descomponedora (Piccini y García-Alonso, 2015). En general, se utilizan tres clases de mecanismos para controlar la carga en el organismo: regulación activa, regulación y almacenamiento, o solamente almacenamiento (Meyer, 2005).

Wallace et al. (2003), definieron operacionalmente las reservas subcelulares de metales como los restos celulares, la fracción sensible a metales (organelos y proteínas

desnaturalizables por calor [HDP]) y la reserva de metales biológicamente detoxificados (gránulos ricos en metales [MRG] y proteínas de tipo metalotioneínas [MTLP]). Geracitano et al. (2004) observaron una mayor inducción de MTLP en los poliquetos de la especie *L. acuta* provenientes de ambientes contaminados, respecto a los no contaminados, mientras que en *H. diversicolor* no se observaron relaciones (Poirier et al., 2006). En poliquetos, este mecanismo de detoxificación solo da cuenta de una pequeña porción de los metales detoxificados, siendo el mecanismo principal los MRG (Fan et al., 2015; Rainbow, 2002; Wallace, 2003).

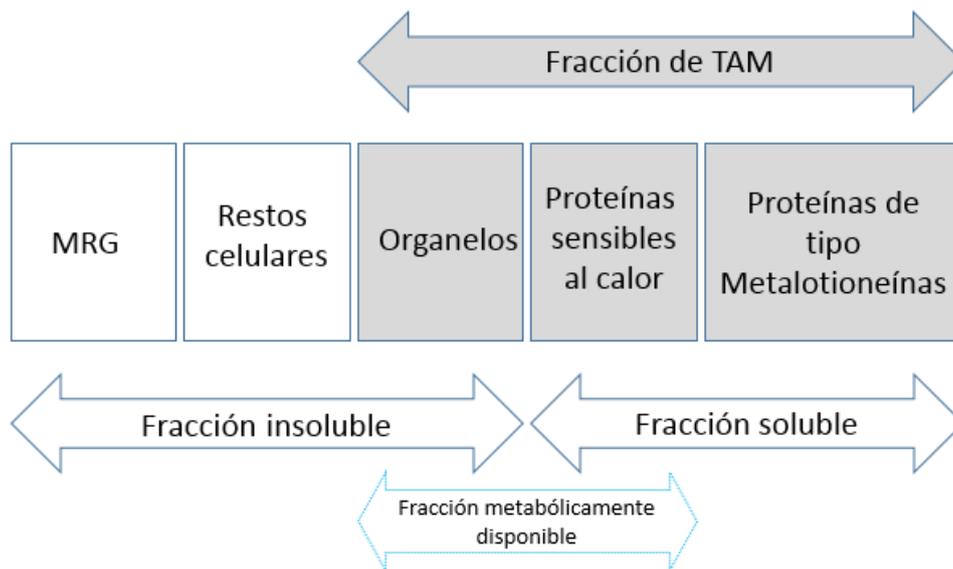
### **1.3 Metales biodisponibles a la trama trófica costera**

En invertebrados acuáticos, normalmente los metales ingresan al organismo a través de la dieta o por disolución, siendo la transferencia trófica comúnmente la ruta dominante de entrada (Wang 2002).

En la naturaleza, la transferencia trófica puede significar una acumulación neta fuerte o despreciable de contaminantes, a pesar de que la biodisponibilidad de los mismos sea alta, ya que los metales se acumulan en distinta medida según si el organismo posee mecanismos de detoxificación, y cuáles son los mismos (Rainbow et al., 2006b). Un factor que podría potencialmente controlar la asimilación de metales traza que ingresan a través de la dieta, es la forma química del mismo acumulado en el organismo predado (Luoma y Rainbow, 2008). Distintos organismos acumulan metales de distinta manera, como en el caso de *Scrobicularia plana* y *H. diversicolor*, donde *H. diversicolor* acumula metales en menor medida. Esto se puede a diferencias en los ciclos de vida, ya que *S. plana* vive más tiempo, lo que le da la posibilidad de acumular contaminantes por mayor cantidad de tiempo. También pueden existir diferencias en los patrones de bioacumulación (Dang et al, 2012; Luoma y Rainbow, 2008). En consecuencia, la predación sobre distintos organismos en el mismo ambiente aportaría diferentes concentraciones de contaminantes a los predadores.

Luoma y Rainbow (2008) proponen que de los compartimentos subcelulares, los que

contienen a los metales disponibles en la trama trófica (TAM) son los organelos, y la fracción soluble, incluyendo esta última a las proteínas sensibles al calor y las proteínas de tipo metalotioneínas (Fig. 1.3). La potencial transferencia desde las fracciones insolubles (MRG y restos celulares) depende del sistema digestivo del predador, por lo que los organismos que generan gránulos para la detoxificación de metales, pueden ser una menor fuente de transferencia de metales a niveles superiores de la trama trófica, que aquellos cuya detoxificación depende principalmente de la unión a proteínas solubles metal-específicas, siendo esta una característica relevante al estudiar los metales disponibles en la trama trófica (Rainbow et al., 2006a; Dang et al., 2012).



**Figura 1.3:** Fracciones subcelulares y metales disponibles en las mismas para la trama trófica (TAM). Modificado de Rainbow y Luoma (2008).

La infauna más ampliamente disponible para peces y especies que habitan el epibentos son los bivalvos pequeños y poliquetos (Jennings et al., 2002). En el estuario del Río de la Plata los invertebrados bénticos se asocian al consumo por parte de peces que habitan en el fondo, como las rayas o corvinas observándose por lo tanto una vía béntica (Botto et al., 2011), por lo que esta especie sería una potencial vía de entrada de los metales a los niveles superiores de la trama trófica. Debido a esto, podría considerarse a *L. acuta* como una especie clave en la trama trófica costera del estuario del Río de la Plata.

Las hipótesis del presente trabajo son que existirá una asociación entre la concentración de metales en *L. acuta* y en los sedimentos. Se esperaría además observar un mejor ajuste de esta asociación con la fracción biodisponible de los metales en los sedimentos que con la total. Los valores de bioacumulación de los metales esenciales serán mayores a los de los no esenciales.

## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo general**

- Estudiar las concentraciones de los metales en sedimentos (biodisponibles y totales) y en *L. acuta* en playas del Río de la Plata.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Determinar la asociación entre los metales encontrados en sedimento y los acumulados en poliquetos.
- Determinar la bioacumulación de metales en *L. acuta* y comparar las concentraciones de metales en este organismo entre las playas estudiadas.
- Generar las bases para caracterizar los metales disponibles en la trama trófica costera.

## **3. Materiales y Métodos**

### **3.1 Área de estudio**

Localizado en la costa sudeste de América del Sur, a aproximadamente 35° 8'S, el Río de la Plata es uno de los sistemas estuarinos más importantes del mundo. Con una superficie de 35.500 km<sup>2</sup>, se extiende 327 km, alcanzando 227 km de ancho donde desemboca en el Océano Atlántico, entre Punta Rasa (Cabo San Antonio en Argentina) y Punta del Este (Uruguay), con un caudal promedio de 24.000 m<sup>3</sup>/s (FREPLATA, 2004).

Es un ambiente micromareal con una dinámica controlada principalmente por el flujo de agua de un sistema de transición y por el viento (O'Connor, 1991; Guerrero et al. 1997).

A pesar de su importante caudal, el Río de la Plata y su Frente Marítimo enfrentan amenazas considerables debido a las actividades económicas ubicadas en las áreas costeras de Uruguay y Argentina, y es por tanto un receptor de contaminación urbana, agrícola e industrial importante (FREPLATA, 2004). El sistema es muy dinámico y los contaminantes son transportados por las corrientes, la advección vertical, los vientos, los sedimentos y los organismos vivos (FREPLATA, 2004).

El área de estudio comprende cinco playas en Montevideo: Punta Yeguas (YEG), Santa Catalina (CAT), Cerro (CER), Ramírez (RAM) y Pocitos (POC), y una en San José, la playa Penino (PEN), ubicadas a lo largo de la costa del Río de la Plata medio (Fig. 3.1). Las últimas cuatro de estas playas se encuentran incluidas en el área urbana de Montevideo, y la Bahía de Montevideo, donde se encuentra la playa Cerro recibe los

desechos de una importante refinería de petróleo (“ANCAP”), los de una gran central termoeléctrica (“Central Batlle”) y recibe a dos cursos de agua contaminados (Pantanosos y Miguelete), así como recibe los desechos municipales no tratados o con un tratamiento primario únicamente, de 1.5 millones de personas (Muniz et al., 2004b).



**Figura 3.1:** Localización del área de estudio en Uruguay. La Playa Penino ubicada en San José, y las playas Punta Yeguas, Santa Catalina, Bahía de Montevideo, Ramírez y Pocitos (las últimas cuatro se encuentran incluidas en el área urbana de Montevideo, y Cerro muy cercana a la Refinería de ANCAP).

Estudios previos (Muniz et al., 2004a; Muniz et al., 2011) han caracterizado a la Bahía de Montevideo (donde se ubica la playa Cerro) como un área altamente contaminada y a la zona costera adyacente como moderadamente contaminada. Las concentraciones de metales observadas indicaron que probablemente se estuvieran generando efectos biológicos adversos, especialmente en la zona de Cerro (Muniz et al. 2004a).

Los sedimentos siempre contienen alguna concentración de metales, debido al movimiento de los elementos en el ambiente, por lo que la mera presencia de metales en los mismos no indica que existen fuentes de metales de origen antropogénico, sino el enriquecimiento por encima del nivel natural de los sedimentos (Pempkowiak, 1991). Se observó la presencia de impacto antrópico en la mayoría de las playas estuarinas estudiadas, basándose en el cálculo de los factores de enriquecimiento realizado por

García-Alonso et al. (datos no publicados). Estos se calcularon para la costa del Río de la Plata (a partir de los valores encontrados en 13 playas prístinas del mismo), encontrando factores de enriquecimiento de hasta 11 respecto a las concentraciones esperadas en el ambiente en los metales estudiados en el presente trabajo (Tabla 3.1).

**Tabla 3.1:** Factores de enriquecimiento de las playas estudiadas en el presente trabajo según García-Alonso et al. (datos no publicados). Se encuentran resaltados los valores de al menos el doble de lo que normalmente se encontraría en la playa.

| Playa | Cd  | Cr         | Cu          | Pb         | Zn         |
|-------|-----|------------|-------------|------------|------------|
| PEN   | 1.4 | <b>2.3</b> | 1.3         | 1.4        | 1.9        |
| YEG   | 1.0 | <b>2.0</b> | 0.9         | 1.6        | 1.3        |
| CAT   | 1.3 | <b>2.9</b> | 1.8         | 1.7        | <b>2.4</b> |
| CER   | 1.0 | <b>4.6</b> | <b>9.8</b>  | <b>2.7</b> | <b>5.1</b> |
| RAM   | 1.2 | <b>3.6</b> | <b>11.1</b> | <b>8.3</b> | <b>7.6</b> |
| POC   | 1.1 | <b>2.0</b> | <b>2.1</b>  | <b>2.3</b> | <b>3.0</b> |

## 3.2 Métodos de muestreo

Se realizó un muestreo en noviembre de 2011 en cada una de las seis playas. Se midió la salinidad, conductividad (mediante conductímetro YSI EC300 ecosense), temperatura, oxígeno disuelto (con oxímetro Oakton DO6 Acorn series) y pH (mediante pH-metro Adwa AD130) para cada una de las playas *in situ*. Las medidas de las características físico-químicas fueron tomadas en el agua, considerando que el sedimento intermareal se encuentra en contacto cercano con la misma. Se colectaron muestras de sedimento (cuatro réplicas por sitio) y poliquetos de la especie *L. acuta* (n=10).

Todo el material empleado fue previamente enjuagado en una solución de ácido clorhídrico (HCl) 10% en agua destilada y desionizada.

Se tomaron cuatro muestras de sedimento intermareal en cada playa a aproximadamente 20 m de distancia cada muestra. Se colectó la fracción óxica del sedimento (5 mm de sedimento superficial) de la zona intermareal en tubos de centrifugación de 50 mL. Se transportaron en recipientes térmicos en frío para almacenarse en el laboratorio

a -20°C hasta el liofilizado. Se analizó el tamaño de grano de sedimento mediante un granulómetro láser (Shimadzu modelo SALD-3101).

Los poliquetos se colectaron mediante colecta manual en diferentes puntos de cada playa y se transportaron en frío. Para corregir el sesgo que podría generarse debido al alimento en el tracto digestivo aun no asimilado, se dejaron purgar 48 horas en agua marina artificial y luego se secaron en papel absorbente para colocarlos en un tubo de 2 mL. Los ejemplares fueron expuestos a 4°C y posteriormente a -15°C durante dos minutos como método anestésico. Posteriormente fueron liofilizados, se calcularon sus pesos secos y se digirieron, basando la metodología en la utilizada por García-Alonso et al. (2011).

### **3.3 Cuantificación de metales**

La cuantificación de metales se realizó en colaboración con el Trace Metal Laboratory del Natural History Museum of London dirigido por el Prof. Phil Rainbow y el Departamento de Ciencias Ambientales, Universidade Estadual do Norte Fluminense de Río de Janeiro.

La concentración total de cada metal en sedimento se determinó tomando 500 mg del mismo por triplicado previamente secado y homogeneizado (< 2,0mm), el cual fue colocado en viales de teflón en un horno de microondas (CEM modelo X-PRESS) con 9 mL de HNO<sub>3</sub>, 4 mL de HF y 2 mL de HCl calentados hasta 180°C con una rampa de 10 minutos y mantenidos a esta temperatura por 20 minutos. Luego se agregaron 25 mL de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 4% (m/v), y se calentaron hasta 180°C nuevamente con una rampa de 10 minutos y mantenidos por 20 minutos a esta temperatura.

La concentración biodisponible de cada metal en sedimento se determinó tomando 500 mg del mismo por triplicado previamente secado y homogeneizado (< 2,0mm) y agregando HCl 1 N, manteniendo a temperatura ambiente por 2 horas.

Tanto para los sedimentos totales como biodisponibles, los extractos fueron filtrados y analizados mediante espectrometría de emisión óptica por plasma de acoplamiento

inductivo (ICP-OES, Varian modelo 720 ES, U. S. EPA método 3052). Se utilizó el sedimento marino certificado NIST 2702 como estándar y los siguientes elementos fueron cuantificados: Cd, Cr, Cu, Pb y Zn.

Para la extracción de metales en poliquetos, las muestras fueron secadas hasta peso constante a 80°C. Se pesaron y se digirieron en 100 DL de ácido nítrico concentrado (grado Aristar, VWR, UK) a 100°C. Se agregó ácido nítrico 2% a la muestra hasta alcanzar 5 mL y la concentración de cada metal se determinó por espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS, Varian 810), debido a la mayor resolución del equipo. Los blancos (únicamente digeridos con HNO<sub>3</sub>) y el material de referencia certificado NIST-1566b (tejido de ostra del National Institute of Standards and Technology, US Department of Commerce) fueron analizados rutinariamente junto a las muestras. En cada muestra se agregó una solución interna (In) al 1% del volumen final de la solución para asegurar la calidad de la matriz.

### **3.4 Factores de acumulación biota-sedimento (BSAF)**

Se determinó el Factor de Acumulación Biota-Sedimento (BSAF) para cada metal. Este factor es la relación entre su concentración en el organismo y en el sedimento total o biodisponible (Van der Oost et al. 2003). Para calcularlo se utilizó la fórmula descrita por Nakayama et al. (2010), dónde:

$$BSAF = \frac{C_t}{C_s}$$

Siendo  $C_t$  la concentración de metal traza en el organismo (en µg de metal por gramo de tejido, según el peso seco) y  $C_s$  la concentración de metal traza en el sedimento (en µg de metal por gramo de sedimento, según el peso seco). Esta relación asume que se ha alcanzado el equilibrio entre el sedimento y el organismo, por lo que no se encuentran sujetos a efectos que puedan afectar el equilibrio estático (Sajwan et al., 2008). Ya que las desviaciones en los BSAF pronosticados con modelos pueden ser

debidas a diferencias en la biodisponibilidad de los compuestos químicos, posiblemente como resultado de una pronunciada variación dependiente de la zona o de los perfiles de bioacumulación de ciertos contaminantes (Van der Oost et al. 2003), se calcularon los mismos tanto con las concentraciones en sedimento totales como biodisponible. Estos últimos se calcularon entonces a modo de intentar disminuir el error generado por la utilización únicamente de los valores totales en sedimento.

## 3.5 Análisis de datos

### 3.5.1 Concentración de metales

Se calculó la concentración en  $\mu\text{g}$  de metal por gramo de poliqueto seco:

$$([\text{Metal}]_{\text{PQ}})_i = \frac{(M_{\text{PQ}})_i}{(M_{\text{Metal}})} \cdot \text{FD}$$

Donde  $(M_{\text{PQ}})_i$  fue la masa del  $i$ -ésimo poliqueto (PQ), FD fue el factor de dilución (5) y  $M_{\text{Metal}}$  fue la masa de cada metal encontrado en el  $i$ -ésimo poliqueto. La concentración de metal en  $\mu\text{g}$  por gramo de sedimento fue calculada de igual manera, tal que el factor de dilución fue 2.6 y se reemplazó la masa de cada poliqueto por la de cada muestra de sedimento total o biodisponible.

Se calcularon y graficaron las medias de las concentraciones de cada metal por playa en poliquetos y sedimentos totales y biodisponibles, y sus respectivos errores estándar para la comparación de los mismos según las playas y los metales.

### 3.5.2 Análisis estadísticos

En primer lugar se analizó si existían diferencias significativas entre las concentraciones de metales en poliquetos entre las playas para cada metal. Para esto es necesario comprobar la normalidad y homoscedasticidad de los datos. Al no ser normales, se realizó

un análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis), el cual no asume ninguno de estos supuestos. Se realizó un análisis a posteriori (Mann-Whitney con corrección de Bonferroni) para determinar entre qué playas se encontraron las diferencias significativas para cada metal.

A pesar de que los poliquetos se encuentran en un ecosistema que posee una determinada concentración de metales (total), es la concentración biodisponible la que puede ser asimilada por los mismos. En el presente trabajo se plantean dos modelos diferentes: uno en el que la concentración en poliquetos depende linealmente de la concentración total, y otro donde depende linealmente de la concentración biodisponible.

Al trabajar con modelos lineales entre variables aleatorias, uno de los coeficientes de mayor importancia estadística, es el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ). Este coeficiente cuantifica la correlación lineal entre dos variables aleatorias, pudiendo tomar valores entre -1 y 1, tal que -1 y 1 representan una relación lineal y 0 una independencia entre las variables. Dado que empíricamente es improbable encontrar una linealidad exacta, se considera que cualquier valor absoluto de  $r$  que sea mayor a 0.7, implica una alta correlación lineal entre las variables (Hinkle et al., 2003). Con el fin de comparar la validez del ajuste lineal de los conjuntos de datos bajo estudio y compararlos entre sí, se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson a partir de los valores de cada metal entre poliquetos y sedimentos totales, y por otro lado entre poliquetos y sedimentos biodisponibles.

El cálculo de la recta de mejor ajuste de un conjunto de datos se obtiene mediante una regresión lineal, a partir de la que pueden calcularse el error asociado a las pendientes del ajuste lineal y los errores residuales de la regresión, calculados a partir de la suma de cuadrados de la misma. Estos errores indican en qué medida difieren los valores empíricos respecto a la recta provista por la regresión tal que cuanto menores sean los mismos, existirá una mayor correspondencia entre el modelo lineal y el conjunto de datos. Una vez calculado  $r$  sobre los datos, se realizó una regresión lineal con el fin de comparar la relación existente entre las concentraciones de cada metal entre poliquetos y sedimentos totales, y por otro lado entre poliquetos y sedimentos biodisponibles.

Como último análisis para la selección del modelo en el presente trabajo, se utilizó el criterio de información de Akaike, el cual define el coeficiente de selección relativo AIC, utilizando la máxima verosimilitud y la complejidad del modelo. Este coeficiente descalifica los modelos complejos y da privilegio a los modelos con mayor poder predictivo (Mazerolle, 2004). La comparación entre modelos se realiza mediante el cálculo de las diferencias de los AIC entre los mismos ( $\Delta_{AIC} = AIC_{TOT} - AIC_{BD}$ ). Como regla general, se considera que  $\Delta_{AIC} < 2$  sugiere evidencia sustancial de que los modelos no son significativamente distintos. Si  $\Delta_{AIC} > 2$  entonces las diferencias son significativas y se escogerá el modelo cuyo AIC sea menor como el más acertado (Burnham and Anderson 2002). En este estudio los AIC y  $\Delta_{AIC}$  fueron calculados para cada metal para comparar los dos modelos planteados y de ser posible, elegir el más óptimo.

En el presente trabajo se utilizaron estos coeficientes estadísticos para evaluar si al utilizar las concentraciones en sedimento biodisponibles, existe una mayor relación con las encontradas en poliquetos, y por lo tanto un mejor poder predictivo.

## 4. Resultados

### 4.1 Variables físico-químicas

Los valores de pH fueron similares en todas las estaciones, obteniéndose valores de entre 7.6 y 8.0. Se observaron los máximos valores de oxígeno disuelto en Penino (9.2 mg/L), y los menores en Cerro (2.47 mg/L), reflejando un estado de hipoxia en este ambiente (Tabla 4.1). La temperatura más baja se encontró en Santa Catalina (21°C) y la más alta en Cerro (28.8°C). El sedimento se clasificó como arena fina en todas las estaciones, con porcentajes de hasta 78% dentro de esta fracción (entre 125 y 250  $\mu\text{m}$ ).

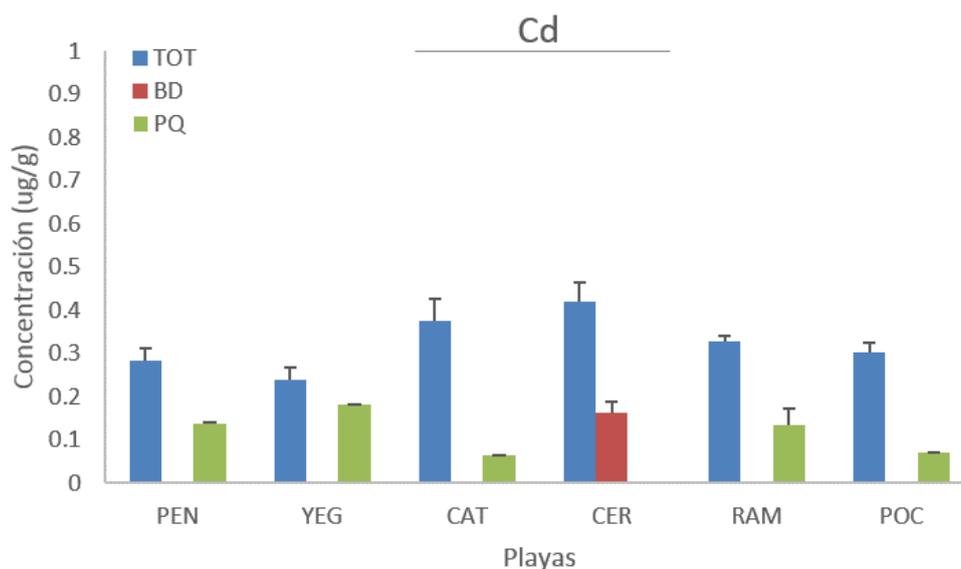
**Tabla 4.1:** Medidas de la salinidad, conductividad (k), temperatura (T), oxígeno disuelto (OD) y pH medidos en el agua. Tipo de grano (Tipo) en base a su rango de tamaño medio (Grano) en el sedimento.

| Playa | Salinidad | k ( $\mu\text{S/cm}$ ) | T ( $^{\circ}\text{C}$ ) | OD (mg/L) | pH   | Grano ( $\mu\text{m}$ ) | Tipo       |
|-------|-----------|------------------------|--------------------------|-----------|------|-------------------------|------------|
| PEN   | 3.2       | 5900                   | 26.4                     | 9.2       | 8.01 | 125–25                  | Arena fina |
| YEG   | 13.1      | 21000                  | 27.4                     | 4.91      | 7.81 | 125–25                  | Arena fina |
| CAT   | 8.5       | 13500                  | 21                       | 7.0       | 7.95 | 125–25                  | Arena fina |
| CER   | 1.5       | 3000                   | 28.8                     | 2.47      | 7.65 | 125–25                  | Arena fina |
| RAM   | 19.5      | 31000                  | 27.6                     | 8.7       | 7.84 | 125–25                  | Arena fina |
| POC   | 25.1      | 40100                  | 28                       | 9.1       | 7.97 | 125–25                  | Arena fina |

## 4.2 Concentraciones de metales

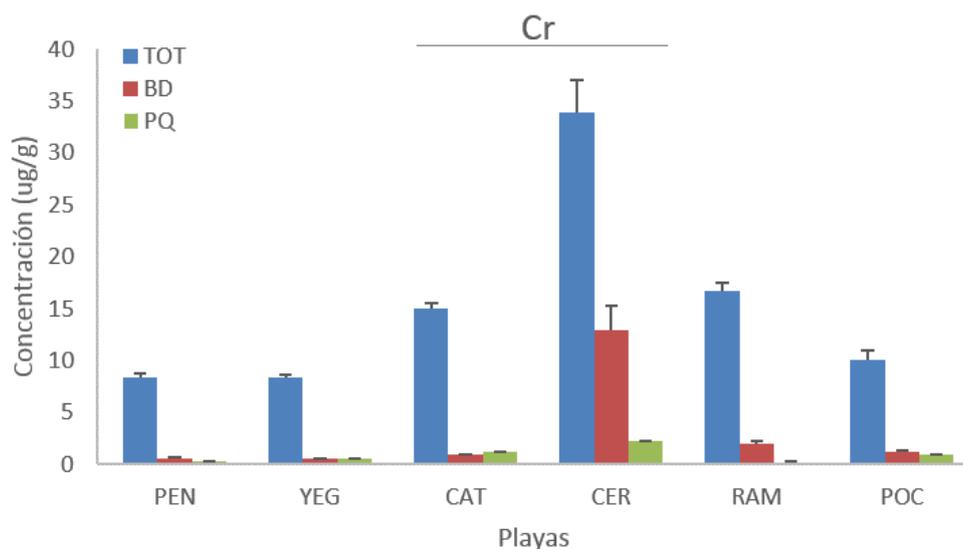
Se observó el siguiente orden decreciente de concentraciones de metales totales y biodisponibles en sedimento  $Zn > Pb > Cr > Cu > Cd$ , mientras que en poliquetos fue  $Zn > Cu > Pb > Cr > Cd$ .

El Cd biodisponible (Fig. 4.1) se encontró por debajo del nivel detectable en sedimentos en casi la totalidad de estaciones, a excepción de Cerro, donde la concentración fue de  $0.16 \mu\text{g/g}$ . En poliquetos, las concentraciones medias no superaron los  $0.18 \mu\text{g/g}$ , y en Cerro, que fue en el único caso que se encontró Cd biodisponible, no se detectó este metal en poliquetos. En los sedimentos totales, las concentraciones de Cd no superaron la media de  $0.42 \mu\text{g/g}$ , pero se encontró presente en todas las estaciones.



**Figura 4.1:** Concentración de Cd (media  $\pm$  error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, PQ).

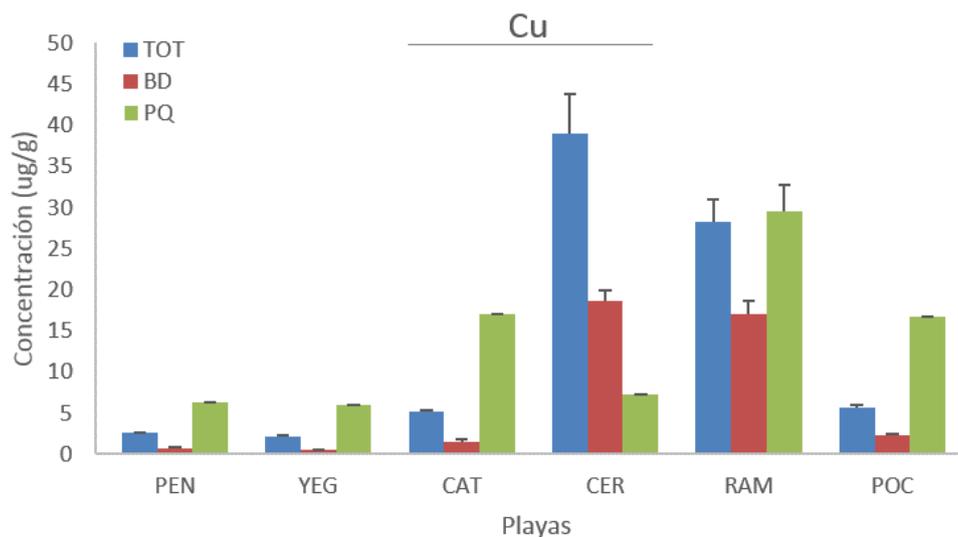
Se observaron niveles de Cr (Fig. 4.2) de hasta  $33.8 \mu\text{g/g}$  en los sedimentos totales de Cerro, y de  $12.9 \mu\text{g/g}$  biodisponibles. Esta estación también fue la que presentó las mayores medias en poliquetos, siendo estas  $2.26 \mu\text{g/g}$ . En esta estación también se observó el mayor porcentaje biodisponible de Cr respecto al total en sedimentos. Penino y Punta Yeguas presentaron los valores más bajos de Cr en sedimentos totales y biodisponibles, y Penino y Ramírez en poliquetos.



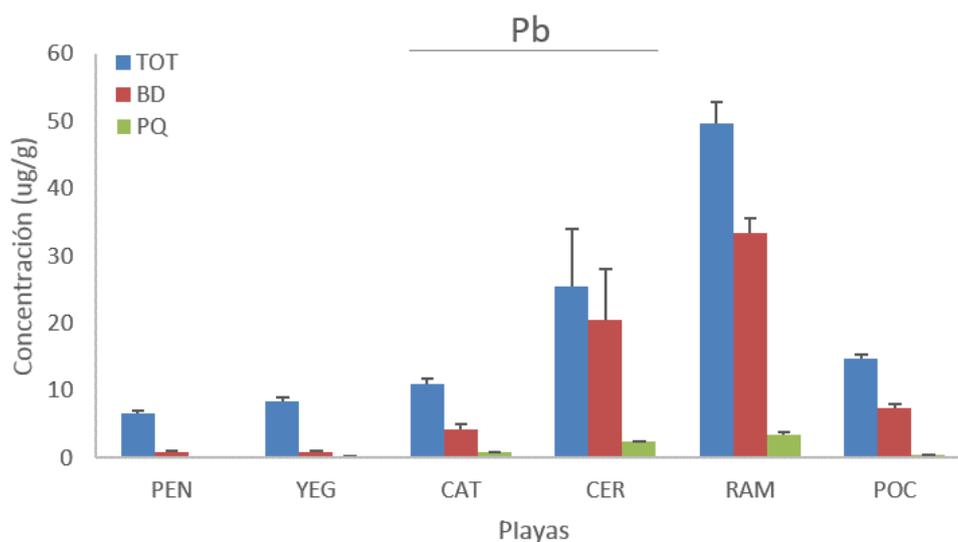
**Figura 4.2:** Concentración de Cr (media  $\pm$  error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, PQ).

La mayoría de las estaciones presentaron una mayor concentración media de Cu en los poliquetos (Fig. 4.3) que las presentes en el sedimento total o biodisponible, alcanzando valores de hasta 29.6  $\mu\text{g/g}$  en poliquetos en la playa Ramírez. En Cerro se encontraron las mayores concentraciones totales y biodisponibles en sedimento (39.1  $\mu\text{g/g}$  y 18.5  $\mu\text{g/g}$  respectivamente), siendo esta la única estación en la que no se observó una mayor concentración de este metal en los poliquetos respecto al sedimento. También se observó una elevada concentración en Playa Ramírez, donde un mayor porcentaje del total se encontró biodisponible. Las concentraciones más bajas se encontraron en Penino y Punta Yeguas tanto en sedimentos como en poliquetos.

Porcentualmente, las concentraciones de Pb (Fig. 4.4) en poliquetos en comparación con las presentes en sedimento fueron en gran medida menores a las observadas para Cd y Cr. Los mayores niveles de Pb se observaron en los sedimentos totales de la playa Ramírez, que presentaron una media de 49.7  $\mu\text{g/g}$ . Las concentraciones medias biodisponibles y en poliquetos en esta estación también fueron las más altas (33.4  $\mu\text{g/g}$  y 2.38  $\mu\text{g/g}$  respectivamente). En Penino y Punta Yeguas se observaron los valores más bajos de este metal en sedimentos y poliquetos.

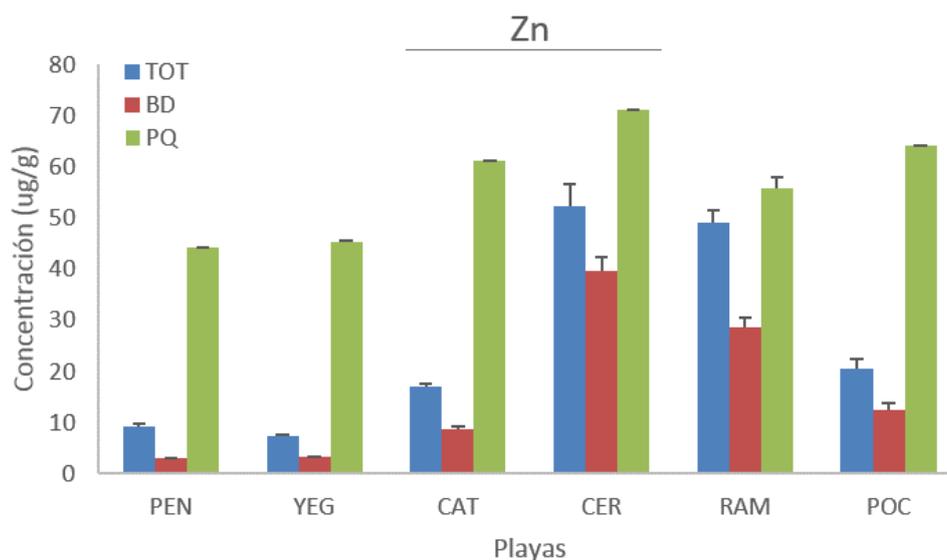


**Figura 4.3:** Concentración de Cu (media  $\pm$  error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD).



**Figura 4.4:** Concentración de Pb (media  $\pm$  error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD).

Se observaron mayores niveles de Zn en poliquetos (Fig. 4.5) que en sedimentos en todas las estaciones, siendo Cerro la que presentó las máximas concentraciones medias en poliquetos (71.1  $\mu\text{g/g}$ ) y en sedimentos totales y biodisponibles (52.3  $\mu\text{g/g}$  y 39.5  $\mu\text{g/g}$  respectivamente). Las estaciones que presentaron menores concentraciones de este metal tanto en poliquetos como en sedimento fueron Penino y Punta Yeguas.



**Figura 4.5:** Concentración de Zn (media  $\pm$  error estándar) en cada una de las playas presente en sedimentos totales (azul, TOT) y biodisponibles (rojo, BD) y en poliquetos (verde, BD).

Las mayores concentraciones de metales en poliquetos se encontraron en Cerro en el caso del Cr y Zn, en Ramírez en el caso del Pb, y en Punta Yeguas en el caso del Cd. En los sedimentos totales y biodisponibles las mayores concentraciones se observaron en Cerro para todos los metales a excepción del Pb. Aproximadamente el 61% de la concentración de Cu se encontró biodisponible respecto al total en Playa Ramírez. Exceptuando este caso, los mayores porcentajes biodisponibles respecto al total se encontraron en Cerro, alcanzando hasta un 79% en el caso del Pb.

### 4.3 Acumulación relativa en *L. acuta*

Los metales que mostraron  $BSAF > 1$ , es decir que hubo una mayor concentración en el tejido que en el sedimento y por lo tanto una bioacumulación de los mismos, fueron el Zn en todos los casos, y el Cu en todas las estaciones a excepción de Cerro, tanto en el caso de los calculados a partir de las concentraciones totales y biodisponibles en sedimentos. En el caso del Cd y Pb se observaron  $BSAF < 1$ , es decir que hubo una menor concentración en el tejido que en el sedimento en todas las estaciones. Respecto al Cr, en el caso de los BSAF calculados a partir de las concentraciones totales en sedimentos no hubo bioacumulación, mientras que en el caso de los calculados a partir

de las concentraciones en sedimento biodisponibles se observó una bioacumulación en muy baja medida, es decir que en este último caso los poliquetos presentaron concentraciones de metales apenas mayores a las presentes en sedimento (BSAF 1) en las playas Punta Yeguas y Santa Catalina. El elemento que presentó un mayor BSAF fue el Zn, tanto en los calculados a partir de las concentraciones totales como biodisponibles en sedimento, con un máximo de 14.24 y 6.28 respectivamente en la playa Punta Yeguas (Tabla 4.2).

**Tabla 4.2:** Factores de acumulación biota-sedimento (BSAF) a partir de las concentraciones totales y biodisponibles de metales en sedimento respecto a *L. acuta*.

| Playa | BSAF Sedimento Total |      |             |      |             | BSAF Sedimento Biodisponible |             |              |      |              |
|-------|----------------------|------|-------------|------|-------------|------------------------------|-------------|--------------|------|--------------|
|       | Cd                   | Cr   | Cu          | Pb   | Zn          | Cd                           | Cr          | Cu           | Pb   | Zn           |
| PEN   | 0.49                 | 0.03 | <b>2.51</b> | 0.01 | <b>4.75</b> | 0.00                         | 0.39        | <b>8.54</b>  | 0.05 | <b>14.24</b> |
| YEG   | 0.76                 | 0.07 | <b>2.79</b> | 0.02 | <b>6.28</b> | 0.00                         | <b>1.06</b> | <b>13.00</b> | 0.24 | <b>14.09</b> |
| CAT   | 0.18                 | 0.08 | <b>3.31</b> | 0.08 | <b>3.58</b> | 0.00                         | <b>1.34</b> | <b>11.22</b> | 0.20 | <b>6.95</b>  |
| CER   | 0.00                 | 0.07 | 0.19        | 0.09 | <b>1.36</b> | 0.00                         | 0.18        | 0.39         | 0.12 | <b>1.80</b>  |
| RAM   | 0.41                 | 0.01 | <b>1.05</b> | 0.07 | <b>1.14</b> | 0.00                         | 0.10        | <b>1.73</b>  | 0.10 | <b>1.95</b>  |
| POC   | 0.23                 | 0.10 | <b>2.95</b> | 0.04 | <b>3.11</b> | 0.00                         | 0.81        | <b>7.25</b>  | 0.07 | <b>5.14</b>  |

#### 4.4 Asociación entre metales acumulados en poliquetos y sedimento

La acumulación de metales en *L. acuta* fue significativamente diferente entre las playas estudiadas según el análisis de varianza de Kruskal-Wallis (Tabla 4.3) con  $p < 0.05$  en el caso del Cd y  $p < 0.01$  para los restantes metales. Particularmente las playas que presentaron diferencias significativas cuando se compararon de a pares (Mann-Whitney con corrección de Bonferroni) fueron principalmente Cerro con Penino para todos los metales a excepción del Cu. Entre Ramírez y Punta Yeguas y Penino se observaron las mayores diferencias significativas en el caso del Cu y Pb. Por otro lado, Penino y Punta Yeguas no presentaron diferencias significativas para la mayoría de los metales, a excepción del Cr (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3:** Valores de p en análisis de varianza de Kruskal-Wallis y de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni entre pares de playas para cada metal.

| Metal | Kruskal-Wallis | Mann-Whitney (con corrección de Bonferroni) |               |               |               |               |               |
|-------|----------------|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|       |                | PEN   | YEG           | CAT           | CER           | RAM           | POC           |
| Cd    | 0.006          | PEN   |               |               |               |               |               |
|       |                | YEG   | 1             |               |               |               |               |
|       |                | CAT   | 1             | 0.7541        |               |               |               |
|       |                | CER   | <b>0.0206</b> | <b>0.0106</b> | 1             |               |               |
|       |                | RAM   | 1             | 1             | 1             | 0.275         |               |
|       |                | POC   | 0.7764        | 0.3920        | 1             | 1             | 1             |
| Cr    | 9.3E-11        | PEN   |               |               |               |               |               |
|       |                | YEG   | <b>0.0179</b> |               |               |               |               |
|       |                | CAT   | <b>0.0008</b> | <b>0.0468</b> |               |               |               |
|       |                | CER   | <b>0.0007</b> | 0.1999        | 1             |               |               |
|       |                | RAM   | 1             | <b>0.0104</b> | <b>6.4E-5</b> | <b>5.6E-5</b> |               |
|       |                | POC   | <b>0.0007</b> | 0.3152        | 1             | 1             | 6.3E-5        |
| Cu    | 4,8E-14        | PEN   |               |               |               |               |               |
|       |                | YEG   | 1             |               |               |               |               |
|       |                | CAT   | <b>0.0002</b> | <b>0.0008</b> |               |               |               |
|       |                | CER   | 1             | 1             | <b>0.0011</b> |               |               |
|       |                | RAM   | <b>1.3E-7</b> | <b>6.2E-6</b> | 0.2898        | <b>2,0E-5</b> |               |
|       |                | POC   | <b>0.0001</b> | <b>0.0006</b> | 1             | <b>0.0024</b> | 0.1607        |
| Pb    | 1.6E-13        | PEN   |               |               |               |               |               |
|       |                | YEG   | 0.3611        |               |               |               |               |
|       |                | CAT   | <b>0.0138</b> | 0.4030        |               |               |               |
|       |                | CER   | <b>0.0001</b> | <b>0.0037</b> | 0.0681        |               |               |
|       |                | RAM   | <b>2.7E-8</b> | <b>3.9E-6</b> | <b>0.0009</b> | 1             |               |
|       |                | POC   | 0.0769        | 1             | 1             | <b>0.0103</b> | <b>2.7E-5</b> |
| Zn    | 1,6E-06        | PEN   |               |               |               |               |               |
|       |                | YEG   | 1             |               |               |               |               |
|       |                | CAT   | <b>0.0238</b> | 0.0565        |               |               |               |
|       |                | CER   | <b>0.0048</b> | <b>0.0045</b> | 1             |               |               |
|       |                | RAM   | <b>0.0181</b> | 0.0858        | 1             | 0.1563        |               |
|       |                | POC   | <b>0.0075</b> | <b>0.0049</b> | 1             | 1             | 0.6667        |

Previo al cálculo de los coeficientes de correlación de Pearson se realizó un test de normalidad de los datos, es decir de las medias en cada playa para cada metal, cumpliéndose este supuesto en la variable de respuesta.

Los mayores coeficientes de correlación de Pearson entre las variables se observaron entre las concentraciones de Pb en poliquetos respecto a las concentraciones biodisponibles y totales en sedimentos (Tabla 4.4). El Cr, Pb y Zn presentaron coeficientes de correlación altos, siendo los mismos mayores a 0.66. En el caso del Cd no se realizaron los cálculos debido a que muchos de los datos se encontraron fuera de los niveles de detección impidiendo contar con los datos necesarios. El Cu presentó valores muy bajos, que no se corresponderían con una relación lineal visible.

Los errores asociados a las pendientes del ajuste lineal, expresados en porcentaje para facilitar su comparación, y los errores residuales de la regresión (Tabla 4.5), fueron menores cuando se calcularon a partir de las concentraciones en sedimentos biodisponibles en el caso del Cr, Pb y Zn, mientras que el Cu no presentó una relación lineal, por lo que no se calcularon estos errores. El metal que presentó los menores errores fue el Pb. En el caso de los AIC el único que presentó una diferencia significativa entre los modelos fue el Pb (Tabla 4.5), donde el calculado para los datos de poliquetos y sedimentos biodisponibles tuvo una diferencia de más de 5 respecto al calculado a partir de poliquetos y sedimentos totales y el valor menor fue en el caso de biodisponibles, lo que indicaría que este modelo se ajustaría mejor a los datos.

**Tabla 4.4:** Coeficientes de correlación de Pearson entre las concentraciones de metales traza encontradas en poliquetos y las concentraciones totales en sedimentos en primer lugar, y las encontradas en sedimento biodisponibles en segundo (los cálculos se realizaron a partir de la media de las concentraciones de cada una de las variables).

| Metal | Concentración total en sedimento respecto a poliquetos | Concentración biodisponible en sedimento respecto a poliquetos |
|-------|--|--|
| Cr    | 0.815  | 0.835  |
| Cu    | 0.255  | 0.379  |
| Pb    | 0.959  | 0.985  |
| Zn    | 0.661  | 0.724  |

**Tabla 4.5:** Errores porcentuales asociados a los coeficientes de ajuste lineal (Error pendiente) y errores residuales de la regresión (SSreg), calculados para las regresiones entre poliquetos y sedimento total (TOT) y entre poliquetos y sedimentos biodisponibles (BD), para el Cr, Pb y Zn. Se incluyen los AIC para las dos mismas regresiones, calculados para el Cr, Cu, Pb y Zn.

| Metal | Error pendiente (%) |      | SSreg |       | AIC   |     |
|-------|---------------------|------|-------|-------|-------|-----|
|       | BD                  | TOT  | BD    | TOT   | BD    | TOT |
| Cr    | 32.8                | 35.5 | 0.906 | 1.01  | 11.69 | 12  |
| Cu    | -                   | -    | -     | -     | 47.70 | 48  |
| Pb    | 9                   | 14.7 | 0.272 | 0.749 | 4.11  | 10  |
| Zn    | 47.5                | 56.6 | 270   | 320   | 45.89 | 47  |

## **5. Discusión**

Los metales esenciales Zn y Cu fueron los que presentaron una mayor acumulación en poliquetos. El área con mayores concentraciones de metales traza en sedimento fue en casi todos los casos la playa Cerro, a excepción del Pb donde fue la playa Ramírez. Las playas presentaron patrones de acumulación distintos para cada metal y en general se observó una mayor correlación y menor error al utilizar los datos de metales biodisponibles en sedimento.

### **5.1 Variables físico-químicas**

Se esperaría que los valores de pH dentro del rango encontrado no generasen marcadas diferencias en cuanto a la biodisponibilidad de los metales ya que la diferencia entre las playas que presentaron mayor y menor valor es de tan solo 0.4. En el caso de la salinidad y el oxígeno disuelto se observaron grandes diferencias, donde la menor salinidad, y la mayor temperatura se encontraron en Cerro, y estas podrían generar mayores biodisponibilidades de metales en esta estación, lo cual se corresponde con lo observado. Los valores de oxígeno disuelto encontrados en Cerro se corresponden con los observados por otros autores (Muniz et al., 2004a) en la zona de la Bahía de Montevideo, donde se suelen registrar eventos de hipoxia.

La granulometría de los ambientes bajo estudio promovería una menor concentración de los metales en los sedimentos superficiales al ser arena fina, ya que esta fracción normalmente posee menores concentraciones al encontrarse dominada por componentes

de cuarzo y tener una menor superficie disponible para la adsorción que fracciones más pequeñas. Baptista et al. (2000), por ejemplo, encontraron concentraciones menores en la fracción de arena del sedimento que en las restantes fracciones. A su vez, al poseer todas las playas la misma granulometría, se disminuye la fuente de error generada por las diferencias en las concentraciones de metales que se pueden encontrar en las distintas fracciones del sedimento.

## **5.2 Concentraciones de metales**

Si bien las concentraciones de metales totales en sedimento dan una idea del grado de contaminación que puede haber en el mismo, son las concentraciones biodisponibles las que dan cuenta de lo que potencialmente puede acumular un organismo (Traina y Laperche, 1999).

La playa que presentó mayores concentraciones de Cd, Cr, Cu y Zn fue Cerro, y con Pb la playa Ramírez (Fig. 4.1 a 4.5). Las playas que presentaron menor concentración de metales fueron Penino y Punta Yeguas, que corresponden a las playas más alejadas de Cerro. Esto concuerda con lo esperado dados los factores de enriquecimiento encontrados en estas playas por García Alonso et al. (datos no publicados). Los mayores porcentajes de metales biodisponibles respecto a los totales se encontraron en Cerro (a excepción del Pb). Al ser ésta la playa más contaminada, sería la que presentaría un mayor riesgo de exposición y acumulación de metales por parte de los poliquetos.

Debido a que los valores de referencia son para sedimento de fondo, es difícil realizar una comparación entre los resultados obtenidos y los obtenidos en otros trabajos en estuarios de América del Sur y otras partes del mundo (Tabla 5.1), ya que no se encontraron estudios realizados en playas. Las concentraciones de metales en diferentes estuarios son muy variables, según lo observado en trabajos de otros autores. A pesar de esto, existen similitudes entre las concentraciones encontradas en playas en el presente trabajo con las encontradas en el sedimento de fondo en otros estudios. A modo de ejemplo, Cerro presenta concentraciones de metales mayores a las encontradas en

la fracción de arena para todos los metales en Jurujuba (Baptista et al., 2000. Las concentraciones de Pb y Cr encontradas en Cerro y Ramírez son similares a las presentes en el sedimento de fondo de Muniz et al. (2004a).

**Tabla 5.1:** Concentraciones de metales en el sedimento en diferentes sedimentos estuarinos. Las mayores concentraciones encontradas se resaltan en **negrita** y las menores en **negrita y cursiva**.

| Estuario                                  | Cd                                   | Cr              | Cu               | Pb              | Zn               |
|---|--------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
|   | Sedimentos en playas totales (ug/g)  |                 |                  |                 |                  |
| <sup>0</sup> Río de la Plata, Uruguay     | 0.2-0.4                              | 8-33            | 2-39             | 6-49            | 7-52             |
|   | Sedimentos de fondo (ug/g)           |                 |                  |                 |                  |
| <sup>1</sup> Zona costera de Montevideo   | -                                    | 37-50           | -                | 38-56           | -                |
| <sup>2</sup> Restronguet Creek, U.K.      | <b>1.53</b>                          | 32              | 2398             | 341             | 2821             |
| <sup>2</sup> Humber Estuary, U.K.         | 0.48                                 | 77              | 54               | 113             | 252              |
| <sup>2</sup> Wyre U.K.                    | 0.35                                 | 37              | 20               | 44              | 122              |
| <sup>2</sup> Solway, U.K.                 | <b>0.23</b>                          | 30              | 7                | 25              | 59               |
| <sup>3</sup> Golden Horn Estuary, Turquía | -                                    | 242- <b>485</b> | 333- <b>3900</b> | 124- <b>702</b> | 450- <b>8750</b> |
| <sup>3</sup> Izmit Bay, Turquía           | -                                    | <b>6</b> -81    | 13-49            | 23-52           | 45-114           |
| <sup>4</sup> Estuario del Ganges, India   | -                                    | 21-100          | <b>4</b> -53     | 12-115          | <b>12</b> -611   |
| <sup>5</sup> Jurujuba Sound, Brazil       | -                                    | 10-223          | 5-213            | <b>5</b> -123   | 15-337           |
| <sup>6</sup> Piratininga Lagoon, Brazil   | -                                    | n.d.            | 11               | 47              | 28               |
| <sup>7</sup> Pearl River Estuary, China   | n.d.                                 | -               | -                | 15.1-76.9       | 26.8-240.9       |
|   | Sedimentos, fracción de arena (ug/g) |                 |                  |                 |                  |
| <sup>4</sup> Jurujuba Sound, Brazil       | -                                    | 10-25           | 5-10             | 5-20            | 15-25            |

<sup>0</sup>Este estudio, <sup>1</sup> Muniz et al. (2004a), <sup>2</sup>Bryan y Langston (1992), <sup>3</sup>Ergin et al. (1991), <sup>4</sup>Subramanian et al. (1988), <sup>5</sup>Baptista et al. (2000), <sup>6</sup>Knoppers et al. (1989), <sup>7</sup>Ye et al. (2012).

## 5.2.1 Cadmio

Las concentraciones de Cd en las distintas playas fueron similares en los ambientes con mayor y menor contaminación, por lo que se podría suponer que no hay una alta contaminación por este metal, tomando en cuenta que los factores de enriquecimiento

del mismo no son mayores a 1.4 (García-Alonso et al., datos no publicados) respecto a los que se esperarían en un ambiente no contaminado.

El Cd se suele asociar con sulfuro, y tiende a precipitar en ambientes anóxicos (Muniz et al., 2004b). Podría suponerse entonces la posibilidad de que la biodisponibilidad de Cd encontrada en Cerro fuese explicada a partir de que este metal se encontrase sulfurado, por lo que podría haber sido digerido con HCl 1N (Cooper, 1998). De ser este el caso, se explicaría por qué los poliquetos no asimilarían este metal que se podría encontrar inmovilizado en el sedimento.

### **5.2.2 Cromo**

Se observaron niveles mayores de este metal en Cerro particularmente respecto a las otras playas (Fig. 4.2), donde desemboca el arroyo Pantanoso, lugar donde solían descargarse en el 2000 una carga anual de aproximadamente 160 toneladas de Cr en aguas sin tratar provenientes de curtiembres de la zona (Muniz et al., 2004b). Se observó una menor concentración (menos de la mitad) de Cr en el sedimento en la playa Cerro particularmente, respecto a lo observado por Muniz et al. (2004b) en la Bahía de Montevideo. Estos resultados concuerdan con la reducción en los niveles de este metal observados por García-Rodríguez et al. (2010), probablemente debido al traslado de este tipo de industria a otras regiones del país.

A pesar de ser el Cr un metal esencial, no se observaron grandes concentraciones en poliquetos, lo que se corresponde con lo observado en otros estudios (Hursthouse et al., 2002; Martello et al., 2002) realizados sobre otras especies de poliquetos (*A. virens* y *H. diversicolor*). El Cr suele encontrarse en bajas concentraciones en los tejidos, ya que a pesar de poder encontrarse en concentraciones similares al Zn en los sedimentos, la biodisponibilidad y la tasa de absorción desde las formas disueltas (incluso Cr(VI)) es baja (Decho y Luoma, 1996; Rainbow y Wang, 2001; Wang et al., 1997).

### 5.2.3 Cobre

Algunos poliquetos de esta familia bioacumulan Cu (Mouneyrac, 2003), como es el caso en la mayoría de las medidas obtenidas, al ser este elemento esencial para diversas funciones del organismo (Tabla 1.1). Se encontró un bajo BSAF de Cu en la playa del Cerro, donde se observaron concentraciones altas de metales traza totales y biodisponibles, pero las presentes en poliquetos fueron similares a las de Penino y Punta Yeguas. Esto podría deberse a que dada la baja concentración de oxígeno disuelto, podría haber una cantidad importante de metal sulfurado, ya que los sulfuros tienden a formarse en ambientes anóxicos (Cooper, 1998). Es posible que esto se de en mayor medida en el Cd y Cu ya que estos metales tienen una mayor tendencia a asociarse con el ion sulfuro (Pearson, 1963). También existe la posibilidad de que al haber demasiada concentración en el sedimento, al superar un umbral disminuyera su absorción, ya que se ha observado en varios estudios que algunas especies de poliquetos pueden generar tolerancia a las altas concentraciones de Cu y Zn, al disminuir su permeabilidad a los mismos (Zhou et al., 2003; Grant, et al., 1989; Pesch y Hoffman, 1982).

### 5.2.4 Plomo

En el caso del Pb, se observó que los poliquetos podrían potencialmente eliminar este metal, o disminuir su absorción en gran medida, ya que las concentraciones de Pb en los poliquetos respecto a las que se encontraron en sedimento, en comparación con los otros metales bajo estudio fue muy baja. En base a los resultados de Dang et al. (2012), el Pb puede ser una causa plausible de toxicidad (aumentos en la mortalidad de algunos predadores) en los predadores de *H. diversicolor*, especie muy similar a *L. acuta*. Es por esto que de todas maneras, concentraciones de este metal como las encontradas en *L. acuta* en Cerro, podrían potencialmente afectar a los organismos que se alimentaran de estos poliquetos. Esto dependerá de la especie y de la dinámica de acumulación de la misma.

### 5.2.5 Zinc

En algunos animales, las concentraciones de Zn en los tejidos tienden a encontrarse reguladas y es menos probable que reflejen cambios ambientales respecto a otros metales. Es por esto que a pesar de que algo del Zn asociado al sedimento (y al agua intersticial) se encuentre biodisponible para poliquetos como *H. diversicolor*, los niveles de Zn presentes en el organismo tienen cierto nivel de independencia respecto al ambiente (Bryan y Hummerstone, 1973; Renfro, 1973).

En algunos invertebrados, sus mandíbulas se caracterizan por contener niveles altos de metales de transición como zinc, cobre, hierro y manganeso. Se ha observado que *H. diversicolor* acumula Zn, lo cual podría dar cuenta hasta cierto punto de los resultados obtenidos respecto a la bioacumulación de Zn en *L. acuta*, ya que a pesar de que las mandíbulas implican menos del 2% del peso seco del poliqueto, pueden incluir más del 20% del Zn total del organismo (Lichtenegger et al., 2003; Bryan y Gibbs, 1979). En particular las concentraciones de Zn podrían deberse a que la presencia de este elemento en las mandíbulas en familias como Nereididae se correlaciona con la dureza y rigidez local del material (Broomell et al., 2006; Lichtenegger et al. 2003). Al pertenecer a la misma familia, siendo especies muy similares, se podría esperar que exista una acumulación similar de este metal en las mandíbulas de *L. acuta*. Debido a esto la transferencia de este metal a niveles superiores de la trama trófica podría verse afectada, ya que al ser las mandíbulas de *L. acuta* quitinosas la digestión de las mismas dependerá del sistema digestivo del predador.

### 5.3 Acumulación relativa en *L. acuta*

Basandose en Van der Oost (2003), existiría una menor fuente de error al calcular los BSAF con los valores de metales en sedimento biodisponibles. Al utilizar los mismos, los BSAF fueron en gran medida mayores para los metales que se bioacumularon. Los BSAF del Zn en playas poco contaminadas alcanzaron valores de hasta 14, pudiendo deberse a la utilización de este metal para el fortalecimiento de las mandíbulas (Lichte-

negger et al. 2003). El Cr superó la concentración en sedimento biodisponible respecto a la encontrada en poliquetos y esto sucede en playas con bajas concentraciones biodisponibles de Cr, por lo tanto las concentraciones en los poliquetos serían bajas también.

## 5.4 Asociación de metales en sedimento y poliquetos

Los niveles similares de metales entre Penino y Punta Yeguas se corresponden con los bajos factores de enriquecimiento de estas playas (Tabla 3.1). En cambio las diferencias en general significativas entre estas playas y Cerro, indicarían que ésta última posee un mayor impacto antrópico, lo que a su vez se corresponde con los factores de enriquecimiento para la misma.

La composición del sedimento es muy compleja y variable, por lo que es extremadamente difícil evaluar la biodisponibilidad de los metales asociados al mismo (Bryan y Langston 1992). En el acercamiento a la obtención de las medidas de metales biodisponibles realizado en el presente trabajo, se observó una alta relación entre las concentraciones de metales encontradas en poliquetos y las biodisponibles en el sedimento en Cr, Pb y Zn, obteniéndose coeficientes de correlación de Pearson de hasta 0.985 en Pb, con un error asociado a la pendiente de 9% y un menor error residual (Tabla 4.4, Tabla 4.5). La relativa independencia del Zn de las concentraciones de metales en sedimento puede deberse a la capacidad de *L. acuta* de regular este metal (Bryan y Hummerstone, 1973; Renfro, 1973), lo que se evidenció en los altos errores residuales y asociados a la pendiente de la regresión lineal.

Los AIC indicaron para todos los metales una mejor asociación entre las concentraciones en poliquetos y en sedimentos biodisponibles. Si bien los  $\Delta_{AIC}$  no fueron significativos en la mayoría de los casos (<2), el obtenido para el Pb, apoya fuertemente al modelo en el que se utilizaron las concentraciones biodisponibles. Tomando en cuenta que el coeficiente de correlación de Pearson fue mayor y los errores calculados fueron menores también cuando se consideraron las concentraciones biodisponibles (a pesar

de que las diferencias entre uno y otro modelo fueron pequeñas), se puede suponer entonces que utilizar la digestión con HCl 1N es un buen acercamiento en cierta medida para la obtención de los metales biodisponibles en el sedimento.

## 5.5 Metales disponibles en la trama trófica

En la distribución subcelular de metales en *H. diversicolor* encontrada por Dang et al. (2012) en varios ambientes estuarinos de Reino Unido, se observa una gran importancia de los organelos como depósitos de metales llegando a contener hasta un 89% del Pb del organismo. Wallace et al. (2003) observaron que las fracciones acumuladas por predadores comprenden únicamente las solubles o asociadas a organelos. La absorción a partir de otras fracciones como los MRG y los restos celulares sería dependiente de la capacidad del predador para digerir las mismas (Freitas et al., 2012). Por lo tanto, considerando la similitud entre *H. diversicolor* y *L. acuta* y los resultados obtenidos por Dang et al. (2012), donde se observa que *H. diversicolor* posee un alto porcentaje de metales disponibles para la trama trófica (Tabla 5.2), se podría considerar que dadas las concentraciones observadas de metales tóxicos como el Pb en el presente estudio, los predadores de *L. acuta* podrían potencialmente asimilar cantidades relevantes de metales. Es por esto que sería relevante en futuras investigaciones, analizar específicamente las fracciones subcelulares donde se almacenan estos metales en *L. acuta*, con el fin de probar su similitud con *H. diversicolor* y por lo tanto analizar en qué medida podrían estar potencialmente ingresando estos metales a los predadores de la zona.

**Tabla 5.2:** Porcentaje de cada metal que se asocia a las distintas fracciones subcelulares en *H. diversicolor* según Dang et al., 2012.

| Metal | MRG (%) | Organelos (%) | HSP (proteínas sensibles al calor) (%) |
|-------|---------|---------------|--|
| Cd    | -       | 12–51         | 12–53                                  |
| Cr    | 20-30   | 20–58         | -                                      |
| Cu    | -       | 21–68         | -                                      |
| Pb    | -       | 33–89         | -                                      |
| Zn    | -       | 13–55         | 18–61                                  |

Dadas las similitudes entre *H. diversicolor* y *L. acuta*, se podría esperar que este último presentara altos valores de metales disponibles para sus predadores, por lo que sería relevante conocer si efectivamente existe esta similitud y su impacto sobre los predadores de estos organismos.

## 6. Conclusiones

Se observó un distinto patrón de acumulación en las distintas playas según el metal. Penino y Punta Yeguas no presentaron diferencias significativas entre sí en general. Se observó que Cerro fue la estación contaminada en mayor medida, con niveles de algunos metales traza considerablemente mayores a los encontrados en las otras playas bajo estudio, así como la playa Ramírez, que presentó las mayores concentraciones de Pb.

La bioacumulación de metales en esta especie se asocia claramente con la fracción biodisponible en el sedimento. Los metales en general acumulados por *L. acuta* fueron Zn y Cu. A pesar de que las diferencias fueron bastante pequeñas entre los dos modelos, en todas las aproximaciones los análisis realizados sobre los datos se obtuvo un mejor ajuste en general al utilizar las concentraciones biodisponibles. En base a esto se podría concluir que la digestión con HCl 1N provee de una buena aproximación para la obtención de los metales biodisponibles en el sedimento. Los niveles de metales biodisponibles en sedimento reflejarían el grado de toxicidad potencial en el ambiente.

# Bibliografía

- Ahlf, W., Drost, W., Heise, S. y col. (2009). Incorporation of metal bioavailability into regulatory frameworks—metal exposure in water and sediment. *Journal of Soils and Sediments*, 9(5), 411-419.
- Allen, H. E. (1993). The significance of trace metal speciation for water, sediment and soil quality criteria and standards. *Science of the total environment*, 134, 23-45.
- Atkinson, C. A., Jolley, D. F. & Simpson, S. L. (2007). Effect of overlying water pH, dissolved oxygen, salinity and sediment disturbances on metal release and sequestration from metal contaminated marine sediments. *Chemosphere*, 69(9), 1428-1437.
- Baptista, N. J., Smith, B. & McAllister, J. (2000). Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, 109(1), 1-9.
- Bemvenuti, C. E. (1998). Invertebrados bentônicos. En U. Seeliger, C. Odebrecht & J. P. Castello (Eds.), *Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil. Rio Grande* (p. 341). Ecoscientia.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Cansin Sackesen, M. D., Erzurum, S. & Kalayci, M. D. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense.
- Bocchetti, R., Fattorini, D., Gambi, M. & Regoli, F. (2004). Trace metal concentrations and susceptibility to oxidative stress in the polychaete *Sabella spallanzanii* (Gmelin)(Sabellidae): potential role of antioxidants in revealing stressful environmental conditions in the Mediterranean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(3), 353-361.
- Botto, F., Gaitán, E., Mianzan, H., Acha, M., Giberto, D., Schiariti, A. & Iribarne, O. (2011). Origin of resources and trophic pathways in a large SW Atlantic estuary: an evaluation using stable isotopes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 92(1), 70-77.
- Botto, F., Iribarne, O. O., Martínez, M. M., Delhey, K. & Carrete, M. (1998). The effect of migratory shorebirds on the benthic species of three southwestern Atlantic Argentinean estuaries. *Estuaries*, 21(4), 700-709.

- Broomell, C. C., Mattoni, M. A., Zok, F. W. & Waite, J. H. (2006). Critical role of zinc in hardening of Nereis jaws. *The Journal of experimental biology*, 209(16), 3219-3225.
- Brown, G. E., Foster, A. L. & Ostergren, J. D. (1999). Mineral surfaces and bioavailability of heavy metals: a molecular-scale perspective. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3388-3395.
- Bryan, G. W. & Gibbs, P. E. (1979). Zinc-a major inorganic component of nereid polychaete jaws. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 59(04), 969-973.
- Bryan, G. W. & Hummerstone, L. G. (1973). Adaptation of the polychaete *Nereis diversicolor* to estuarine sediments containing high concentrations of zinc and cadmium. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 53(04), 839-857.
- Bryan, G. W. & Langston, W. J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental pollution*, 76(2), 89-131.
- Burnham, K. P. & Anderson, D. R. (2002). *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. Springer Science & Business Media.
- Calace, N., Petronio, B. M. & Pietroletti, M. (2006). Metal bioavailability: How does its significance change in the time? *Annali di chimica*, 96(3-4), 131-136.
- Cooper, D. C. & Morse, J. W. (1998). Extractability of metal sulfide minerals in acidic solutions: application to environmental studies of trace metal contamination within anoxic sediments. *Environmental science & technology*, 32(8), 1076-1078.
- Crane, M. (2003). Proposed development of sediment quality guidelines under the European Water Framework Directive: a critique. *Toxicology Letters*, 142(3), 195-206.
- Dang, F., Rainbow, P. S. & Wang, W.-X. (2012). Dietary toxicity of field-contaminated invertebrates to marine fish: Effects of metal doses and subcellular metal distribution. *Aquatic toxicology*, 120, 1-10.
- de la Lanza-Espino, G., Pulido, S. H. & Pérez, J. L. C. (2000). *Organismos indicadores de la calidad del agua y de la contaminación (bioindicadores)*. Plaza y Valdés.
- Decho, A. W. & Luoma, S. N. (1994). Humic and fulvic acids: sink or source in the availability of metals to the marine bivalves *Macoma balthica* and *Potamocorbula amurensis*? *Marine Ecology Progress Series*, 108, 133-145.
- Ducrotoy, J.-P. (2010). The use of biotopes in assessing the environmental quality of tidal estuaries in Europe. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 86(3), 317-321.
- Durou, C., Mouneyrac, C. & Amiard-Triquet, C. (2005). Tolerance to metals and assessment of energy reserves in the polychaete *Nereis diversicolor* in clean and contaminated estuaries. *Environmental toxicology*, 20(1), 23-31.
- Ergin, M., Saydam, C., Baştürk, Ö., Erdem, E. & Yörük, R. (1991). Heavy metal concentrations in surface sediments from the two coastal inlets (Golden Horn Estuary and Izmit Bay) of the northeastern Sea of Marmara. *Chemical Geology*, 91(3), 269-285.

- Fan, W., Xu, Z. & Wang, W.-X. (2015). Contrasting metal detoxification in polychaetes, bivalves and fish from a contaminated bay. *Aquatic Toxicology*, 159, 62-68.
- FREPLATA. (2004). Análisis Diagnóstico Transfronterizo del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Documento Técnico. Proyecto Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Proyecto PNUD/GEF/RLA/99/G31. .
- García Rodríguez, F., Hutton, M., Brugnoli, E., Venturini, N., del Puerto, L., Inda, H., ... 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(1), 91-100.
- García-Alonso, J., Greenway, G. M., Munshi, A., Gómez, J. C., Mazik, K., Knight, A. W., ... Elliott, M. (2011). Biological responses to contaminants in the Humber Estuary: disentangling complex relationships. *Marine environmental research*, 71(4), 295-303.
- Geracitano, L., Bocchetti, R., Monserrat, J. M., Regoli, F. & Bianchini, A. (2004). Oxidative stress responses in two populations of *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) after acute and chronic exposure to copper. *Marine environmental research*, 58(1), 1-17.
- Geracitano, L., Monserrat, J. M. & Bianchini, A. (2002). Physiological and antioxidant enzyme responses to acute and chronic exposure of *Laeonereis acuta* (Polychaeta, Nereididae) to copper. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 277(2), 145-156.
- Grant, A., Hateley, J. G. & Jones, N. V. (1989). Mapping the ecological impact of heavy metals on the estuarine polychaete *Nereis diversicolor* using inherited metal tolerance. *Marine Pollution Bulletin*, 20(5), 235-238.
- Guerrero, R. A., Acha, E. M., Framin, M. B. & Lasta, C. A. (1997). Physical oceanography of the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Continental Shelf Research*, 17(7), 727-742.
- Harvey, R. W. & Luoma, S. N. (1985). Effect of adherent bacteria and bacterial extracellular polymers upon assimilation by *Macoma balthica* of sediment-bound Cd, Zn and Ag. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 22(3), 281-289.
- Hinkle, D. E., Wiersma, W. & Jurs, S. G. (2003). Applied statistics for the behavioral sciences.
- Hursthouse, A. S., Matthews, J. M., Iqbal-Zahid, P., Davies, I. M. & Vaughan, D. H. (2003). Chromium in intertidal sediments of the Clyde, UK: potential for remobilisation and bioaccumulation. *Environmental geochemistry and health*, 25(2), 171-203.
- Jennings, S., Pinnegar, J. K., Polunin, N. V. & Warr, K. J. (2002). Linking size-based and trophic analyses of benthic community structure. *Marine Ecology Progress Series*, 226, 77-85.
- Kennish, M. J. (1991). *Ecology of estuaries: anthropogenic effects*. CRC press.

- Kersten, M. (2002). Speciation of trace metals in sediments. *Chemical Speciation in the Environment, Second Edition*, 301-321.
- Lee, B.-G., Wallace, W. G. & Luoma, S. N. (1998). Uptake and loss kinetics of Cd, Cr and Zn in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma balthica*: effects of size and salinity. *Marine Ecology-Progress Series*, 175, 177-189.
- Lichtenegger, H. C., Schöberl, T., Ruokolainen, J. T., Cross, J. O., Heald, S. M., Birkedal, H., ... Stucky, G. D. (2003). Zinc and mechanical prowess in the jaws of *Nereis*, a marine worm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(16), 9144-9149.
- Luoma, S. N. & Rainbow, P. S. (2008). *Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management*. Cambridge University Press.
- Martello, L., Fuchsman, P., Sorensen, M., Magar, V. & Wenning, R. (2007). Chromium geochemistry and bioaccumulation in sediments from the lower Hackensack River, New Jersey. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 53(3), 337-350.
- Mazerolle, M. (2004). Making sense out of Akaike's Information Criterion (AIC): its use and interpretation in model selection and inference from ecological data. *World Wide Web*. < <http://www.theses.ulaval.ca/2004/21842/apa.html>.
- Meyer, J. S. (2005). *Toxicity of dietborne metals to aquatic organisms*. Allen Press/ACG Publishing.
- Mouneyrac, C., Mastain, O., Amiard, J., Amiard-Triquet, C., Beaunier, P., Jeantet, A.-Y., ... Rainbow, P. (2003). Trace-metal detoxification and tolerance of the estuarine worm *Hediste diversicolor* chronically exposed in their environment. *Marine Biology*, 143(4), 731-744.
- Muniz, P. [P], Venturini, N., Hutton, M., Kandratavicius, N., Pita, A., Brugnoli, E., ... García-Rodríguez, F. (2011). Ecosystem health of Montevideo coastal zone: A multi approach using some different benthic indicators to improve a ten-year-ago assessment. *Journal of Sea Research*, 65(1), 38-50.
- Muniz, P. [Pablo], Danulat, E., Yannicelli, B., Garcí, J., Medina, G. & Bí cego, M. C. (2004b). Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo Harbour (Uruguay). *Environment International*, 29(8), 1019-1028.
- Muniz, P. [Pablo], Venturini, N. & Gómez-Erache, M. (2004a). Spatial distribution of chromium and lead in the benthic environment of coastal areas of the Río de la Plata estuary (Montevideo, Uruguay). *Brazilian Journal of Biology*, 64(1), 103-116.
- Nakayama, S. M., Ikenaka, Y., Muzandu, K., Choongo, K., Oroszlany, B., Teraoka, H., ... Ishizuka, M. (2010). Heavy metal accumulation in lake sediments, fish (*Oreochromis niloticus* and *Serranochromis thumbergi*), and crayfish (*Cherax quadricarinatus*) in

- Lake Itzhi-tezhi and Lake Kariba, Zambia. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 59(2), 291-300.
- Navratil, T. & Minarik, L. (2005). Trace elements and contaminants. *Encyclopedia of Life Support System*, 4, 1184-1213.
- O'Connor, W. P. (1991). A numerical model of tides and storm surges in the Rio de la Plata Estuary. *Continental Shelf Research*, 11(12), 1491-1508.
- Omena, E. P. [Elianne P] & Amaral, A. C. Z. [Antonia Cecília Z]. (2001). Morphometric study of the nereidid *Laeonereis acuta* (Annelida: Polychaeta). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 81(03), 423-426.
- Omena, E. P. [Elianne Pessoa] & Amaral, A. C. Z. [Antonia Cecilia Zacagnini]. (2000). Population dynamics and secondary production of *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923)(Nereididae: Polychaeta). *Bulletin of Marine Science*, 67(1), 421-431.
- Páez-Osuna, F. (2005). Fuentes de metales en la zona costera marina. En A. V. Botello, J. R.-v. Osten, G. Gold-Bouchot & C. Agraz-Hernández (Eds.), *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias* (2da, pp. 329-342). Universidad Autónoma de Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología.
- Pearson, R. G. (1963). Hard and soft acids and bases. *Journal of the American Chemical Society*, 85(22), 3533-3539.
- Pempkowiak, J. (1991). Enrichment factors of heavy metals in the Southern Baltic surface sediments dated with 210 Pb and 137 Cs. *Environment International*, 17(5), 421-428.
- Pesch, C. E. & Hoffman, G. L. (1982). Adaptation of the polychaete *Neanthes arenaceo-dentata* to copper. *Marine Environmental Research*, 6(4), 307-317.
- Petii, M. A. V., Nonato, E. F. & de Paiva, P. C. (1996). Trophic relationships between polychaetes and btachyuran crabs onthe southeastern Brazilian coast. *Rev. bras. oceanogr*, 44(1), i1-67.
- Petts, J., Cairney, T., Smith, M. y col. (1997). *Risk-based contaminated land investigation and assessment*. John Wiley & Sons.
- Poirier, L., Berthet, B., Amiard, J.-C., Jeantet, A.-Y. & Amiard-Triquet, C. (2006). A suitable model for the biomonitoring of trace metal bioavailabilities in estuarine sediments: the annelid polychaete *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86(01), 71-82.
- Rainbow, P. S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4), 183-192.
- Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120(3), 497-507.
- Rainbow, P. S. & Luoma, S. N. (2010). The legacy lies in the sediments. *Integrated environmental assessment and management*, 6(3), 505-506.

- Rainbow, P. (2006). Biomonitoring of trace metals in estuarine and marine environments. *Aust J Ecotoxicol*, 12, 107-122.
- Rainbow, P., Poirier, L., Smith, B., Brix, K. & Luoma, S. (2006a). Trophic transfer of trace metals: subcellular compartmentalization in a polychaete and assimilation by a decapod crustacean. *Marine Ecology Progress Series*, 308, 91-100.
- Rainbow, P., Poirier, L., Smith, B., Brix, K. & Luoma, S. (2006b). Trophic transfer of trace metals from the polychaete worm *Nereis diversicolor* to the polychaete *N. virens* and the decapod crustacean *Palaemonetes varians*. *Marine Ecology Progress Series*, 321, 167-181.
- Rainbow, P., Smith, B. & Luoma, S. (2009). Differences in trace metal bioaccumulation kinetics among populations of the polychaete *Nereis diversicolor* from metal-contaminated estuaries. *Mar. Ecol.: Prog. Ser.*, 376, 173-184.
- Reish, D. J. (1979). Bristle worms (Annelida: Polychaeta). *Pollution ecology of estuarine invertebrates*, 3, 78-127.
- Renfro, W. (1973). Transfer of <sup>65</sup>Zn from sediments by marine polychaete worms. *Marine Biology*, 21(4), 305-316.
- Sajwan, K. S., Kumar, K. S., Paramasivam, S., Compton, S. S. & Richardson, J. P. (2008). Elemental status in sediment and American oyster collected from Savannah marsh/estuarine ecosystem: A preliminary assessment. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 54(2), 245-258.
- Sizmur, T., Canário, J., Edmonds, S., Godfrey, A. & O'Driscoll, N. J. (2013). The polychaete worm *Nereis diversicolor* increases mercury lability and methylation in intertidal mudflats. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(8), 1888-1895.
- Spencer, K. & MacLeod, C. (2002). Distribution and partitioning of heavy metals in estuarine sediment cores and implications for the use of sediment quality standards. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, 6(6), 989-998.
- Sun, F.-H. & Zhou, Q.-X. (2008). Oxidative stress biomarkers of the polychaete *Nereis diversicolor* exposed to cadmium and petroleum hydrocarbons. *Ecotoxicology and environmental safety*, 70(1), 106-114.
- Timmermans, K. R. (1993). Accumulation and effects of trace metals in freshwater invertebrates. En R. Dallinger & P. S. Rainbow (Eds.), *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates* (pp. 48-133). A Special Publication of SETAC. Boca Raton, Florida, USA: Lewis.
- Traina, S. J. & Laperche, V. (1999). Contaminant bioavailability in soils, sediments, and aquatic environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3365-3371.
- Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.

- Walker, C. H., Sibly, R., Hopkin, S. & Peakall, D. B. (2012). *Principles of ecotoxicology*. CRC Press.
- Wallace, W. G., Lee, B.-G. & Luoma, S. N. (2003). Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. Significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM). *Marine Ecology Progress Series*, 249, 183-197.
- Ye, F., Huang, X., Zhang, D., Tian, L. & Zeng, Y. (2012). Distribution of heavy metals in sediments of the Pearl River Estuary, Southern China: Implications for sources and historical changes. *Journal of Environmental sciences*, 24(4), 579-588.
- Zhou, Q., Rainbow, P. & Smith, B. (2003). Tolerance and accumulation of the trace metals zinc, copper and cadmium in three populations of the polychaete *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 83(01), 65-72.